



**UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA**  
**PROGRAMA DE DOCTORADO EN RECURSOS NATURALES**  
**Y GESTIÓN SOSTENIBLE**

***TESIS DOCTORAL***

**EVALUACIÓN DE LA CALIDAD HIGIÉNICO-SANITARIA Y TECNOLÓGICA DE LA LECHE DE RAZA MANCHEGA COMO INSTRUMENTO PARA LA MEJORA DE LA VIABILIDAD SOCIO-ECONÓMICA Y AMBIENTAL DE LOS SISTEMAS PRODUCTIVOS DE OVINO LECHERO.**

**(Evaluation of the hygienic-sanitary and technological quality of Manchega Sheep as an instrument for the improvement of the social-economic and environmental viability of the productive systems of milk sheep).**

**DOCTORANDA**

**Dña. LORENA JIMÉNEZ SOBRINO**

**DIRECTORES DE TESIS**

**Dr. RAMÓN ARIAS SÁNCHEZ**

**Dr. ANTÓN RAFAEL GARCÍA MARTÍNEZ**

**Dra. ANA ISABEL GARZÓN SIGLER**

**CÓRDOBA**

**Diciembre 2019**

TITULO: *EVALUACIÓN DE LA CALIDAD HIGIÉNICO-SANITARIA Y  
TECNOLOGICA DE LA LECHE DE RAZA MANCHEGA COMO  
INSTRUMENTO PARA LA MEJORA DE LA VIABILIDAD  
SOCIO-ECONOMICA Y AMBIENTAL DE LOS SISTEMAS  
PRODUCTIVOS DE OVINO LECHERO*

AUTOR: *Lorena Jiménez Sobrino*

---

© Edita: UCOPress. 2020  
Campus de Rabanales  
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A  
14071 Córdoba

<https://www.uco.es/ucopress/index.php/es/>  
[ucopress@uco.es](mailto:ucopress@uco.es)

---



UNIVERSIDAD DE CORDOBA

**UNIVERSIDAD DE CORDOBA (ESPAÑA)**

**POSTGRADO EN RECURSOS NATURALES Y GESTIÓN SOSTENIBLE**

**EVALUACIÓN DE LA CALIDAD HIGIÉNICO-SANITARIA Y TECNOLÓGICA DE LA LECHE DE  
RAZA MANCHEGA COMO INSTRUMENTO PARA LA MEJORA DE LA VIABILIDAD SOCIO-  
ECONÓMICA Y AMBIENTAL DE LOS SISTEMAS PRODUCTIVOS DE OVINO LECHERO.**

***TESIS DOCTORAL***

Tesis presentada por Dña. LORENA JIMÉNEZ SOBRINO para optar al grado de Doctor  
por la Universidad de Córdoba (España)

Vº Bº

Vº Bº

Dr. Ramón Arias Sánchez

Dr. Antón García Martínez

Vº Bº

Dr. Ana Isabel Garzón Sigler







**D. RAMÓN ARIAS SÁNCHEZ, TÉCNICO SUPERIOR DE INVESTIGACIÓN DEL CENTRO REGIONAL DE SELECCIÓN Y REPRODUCCIÓN ANIMAL DEL INSTITUTO REGIONAL DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO AGROALIMENTARIO Y FORESTAL DE CASTILLA-LA MANCHA (CERSYRA-IRIAF).**

**INFORMA:**

Que la tesis Doctoral titulada **EVALUACIÓN DE LA CALIDAD HIGIÉNICO-SANITARIA Y TECNOLÓGICA DE LA LECHE DE RAZA MANCHEGA COMO INSTRUMENTO PARA LA MEJORA DE LA VIABILIDAD SOCIO-ECONÓMICA Y AMBIENTAL DE LOS SISTEMAS PRODUCTIVOS DE OVINO LECHERO**, que se recoge en la siguiente memoria y de la que es autora Dña. LORENA JIMÉNEZ SOBRINO, ha sido realizada bajo mi dirección, cumpliendo las condiciones exigidas para que el misma pueda optar al Grado de Doctor por la Universidad de Córdoba.

Lo que suscribo como director de dicho trabajo y a los efectos oportunos, en Córdoba a 16 de diciembre del dos mil diecinueve.

Fdo. Dr. Ramón Arias Sánchez





**D. ANTÓN RAFAEL GARCÍA MARTÍNEZ, PROFESOR TITULAR DE UNIVERSIDAD DEL  
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL DE LA UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA.  
INFORMA:**

Que la tesis Doctoral titulada **EVALUACIÓN DE LA CALIDAD HIGIÉNICO-SANITARIA Y TECNOLÓGICA DE LA LECHE DE RAZA MANCHEGA COMO INSTRUMENTO PARA LA MEJORA DE LA VIABILIDAD SOCIO-ECONÓMICA Y AMBIENTAL DE LOS SISTEMAS PRODUCTIVOS DE OVINO LECHERO**, que se recoge en la siguiente memoria y de la que es autora Dña. LORENA JIMÉNEZ SOBRINO, ha sido realizada bajo mi dirección, cumpliendo las condiciones exigidas para que el misma pueda optar al Grado de Doctor por la Universidad de Córdoba.

Lo que suscribo como director de dicho trabajo y a los efectos oportunos, en Córdoba a  
16 de diciembre del dos mil diecinueve.

Fdo. Dr. Antón Rafael García Martínez





**Dña. ANA ISABEL GARZÓN SIGLER, PROFESORA TITULAR DE UNIVERSIDAD DEL DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL DE LA UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA. INFORMA:**

Que la tesis Doctoral titulada **EVALUACIÓN DE LA CALIDAD HIGIÉNICO-SANITARIA Y TECNOLÓGICA DE LA LECHE DE RAZA MANCHEGA COMO INSTRUMENTO PARA LA MEJORA DE LA VIABILIDAD SOCIO-ECONÓMICA Y AMBIENTAL DE LOS SISTEMAS PRODUCTIVOS DE OVINO LECHERO**, que se recoge en la siguiente memoria y de la que es autora Dña. LORENA JIMÉNEZ SOBRINO, ha sido realizada bajo mi dirección, cumpliendo las condiciones exigidas para que el misma pueda optar al Grado de Doctor por la Universidad de Córdoba.

Lo que suscribo como director de dicho trabajo y a los efectos oportunos, en Córdoba a 16 de diciembre del dos mil diecinueve.

Fdo. Dra. Ana Isabel Garzón Sigler





TÍTULO DE LA TESIS:

**EVALUACIÓN DE LA CALIDAD HIGIÉNICO-SANITARIA Y TECNOLÓGICA DE LA LECHE DE RAZA MANCHEGA COMO INSTRUMENTO PARA LA MEJORA DE LA VIABILIDAD SOCIO-ECONÓMICA Y AMBIENTAL DE LOS SISTEMAS PRODUCTIVOS DE OVINO LECHERO.**

DOCTORANDA: Dña. LORENA JIMÉNEZ SOBRINO

**INFORME RAZONADO DEL/DE LOS DIRECTOR/ES DE LA TESIS**

*La doctoranda durante su periodo de formación, en la Escuela Internacional de Doctorado de la Universidad de Córdoba, ha cubierto diferentes etapas que la capacitan para la obtención del Título de Doctor. Realizó su tesis de Maestría en el Laboratorio Lechero del Departamento de Producción Animal profundizando en los factores de calidad de la leche y del queso. Posteriormente se incorporó en el Proyecto INIA “Evaluación de la calidad higiénico-sanitaria y tecnológica de la leche de raza Manchega como instrumento para la mejora de la viabilidad socio-económica y ambiental de los sistemas productivos de ovino lechero”, donde ha realizado la mayor parte del estudio de Tesis. Este periodo lo ha desarrollado en el CERSYRA de Valdepeñas con una beca de investigación FPI-INIA dirigida a la formación del personal investigador en agroalimentación en los centros de investigación INIA-CCAA. La Tesis ha dado lugar a diferentes trabajos de investigación, de transferencia y de divulgación, además de propuestas de buenas prácticas para la mejora del sector.*

*El trabajo muestra un carácter dinámico, incluyendo la caracterización de explotaciones y la calidad físico-química de la leche, además de la caracterización higiénico-sanitaria y tecnológica de la leche. Esta visión holística del sistema y su relación con la calidad es un hito novedoso para el avance de la ciencia en este ámbito de conocimiento.*

*A tenor de lo expuesto, el doctorando ha adquirido las habilidades y competencias necesarias para poder abordar la problemática del sector desde una doble perspectiva; por una parte, desde la orientación investigadora con toda su secuencia metodológica y por otra parte la resolución de problemas sectoriales de modo solvente.*

Por otra parte, la presente Tesis Doctoral ha dado lugar a los siguientes indicios de calidad:

## TRABAJO FIN DE MÁSTER

Título: Efecto de uso del subproducto en alimentación animal. Calidad tecnológica de leche ovina manchega

Calificación. Sobresaliente (10)

## ARTICULOS INDEXADOS

**Jiménez, L.,** Garzón, A., Pérez-Guzmán, M.D., Arias, R., García, A. Estudio de la calidad microbiológica diferencial de la leche de tanque: límites de referencia y relaciones entre grupos. Revista Científica de la Universidad de Zulia, facultad de ciencias veterinarias, FCV-LUZ, Volumen XXVIII (Enero-Febrero 2018).

**Jiménez, L.,** Poveda, J.M., Garzón, A., Martínez, A., Núñez, N., Romero, J., Pérez-Guzmán, M.D., Arias, R. Composition and Color Indices of sheep's bulk-tank milk are influenced by production practices. Italian Journal of Animal Science. 05 Octubre 2017. En Línea: <http://dx.doi.org/10.1080/1828051X.2017.1383860>.

Arias, R., Gallego, R., Altares, S., Garzón, A., Romero, J., **Jiménez, L.,** Oliete, B., Arias, C., Caballero, J., Martínez, A., Núñez, N., García, A., Ramón, M., Montoro, V., Pérez-Guzmán, M.D., 2016. Calidad de la leche en ganaderías de Ovino Manchego. Revisión. Archivos de Zootecnia, 65 (251): 469-473. ISSN Online 1885 - 4494.

Caballero, J., Garzón, A., Oliete, B., Arias, R., **Jiménez, L.,** Nuñez, N., Martínez, A.L., 2015. Relationship of somatic cell count and composition and coagulation properties of ewe's milk. Mljekarstvo, 65(2): 138-143. ISSN: 0026-704X (Print); 1846-4025 (Online) 0026-704X.

## REVISTAS TÉCNICAS DEL SECTOR NACIONALES (ACTIVIDAD DE TRANSFERENCIA)

**Jiménez, L.,** Romero, J., Garzón, A., Pérez-Guzmán, M.D., Arias, R., 2018. Calidad microbiológica diferencial de la leche de oveja. Revista Consorcio Manchego, nº 52, 4º trimestre de 2018.

**Jiménez, L.,** Romero, J., Garzón, A., Pérez-Guzmán, M.D., Arias, R., 2017. Calidad físico-química de la leche de oveja manchega y su relación con factores de producción de las ganaderías. Revista Consorcio Manchego, nº 46, 2º trimestre de 2017.

**Jiménez, L.,** Oliete, B., Arias, C., Garzón, A., Caballero, J., Romero, J., Pérez-Guzmán, M.D., Arias, R., 2013. Nuevas herramientas en los sistemas de control de calidad de leche de oveja. Evaluación de la composición, microbiología y propiedades tecnológicas para la producción de queso. Revista Tierras Ovino, Volumen 4: 10-52. I.S.S.N: 1889-0903. Dep. Legal: LE-675-1995.

Oliete, B., Arias, C., **Jiménez, L.,** Garzón, A., Romero, J., Calatayud, J.R., Arias, R., 2011. Presencia de *Staphylococcus* en leche de Oveja Manchega y su influencia en los parámetros de coagulación de la leche. Revista Tierras Ganadería, 182: 30-33. I.S.S.N: 1889-0903.

Oliete, B., Arias, C., **Jiménez, L.,** Calatayud, J.R., Pérez-Guzmán, M.D., Arias, R., 2011. ¿Cómo mejorar la calidad de la leche en la granja ovina? Revista Albéitar, 149: 28-29. I.S.S.N: 1699-7883.

## CONTRIBUCIONES A LIBROS: CAPÍTULOS

Arias, R., **Jiménez, L.,** Oliete, B., Calidad y Seguridad de la leche en la producción primaria. Programas de autocontrol en las ganaderías, en el Libro Gestión Sustentable de empresas agroalimentarias.



Factores clave de estrategia competitiva. Autores: Guadalupe Murillo Campuzano, Antón García, Marco Lara Olalla, Luis Plaza Ormaza y Dominga Rodríguez Angulo. Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador, 2015, Pp: 564. ISBN: 978-9942-14-148-4.

## COMUNICACIONES EN CONGRESOS NACIONALES

**Jiménez, L.**, Quintana, A., Garzón, A., Oliete, B., Pérez-Guzmán, M.D., Arias, R., 2018. Relación entre la microbiología de la leche de tanque y los factores de producción de las ganaderías de ovino lechero. Libro de Comunicaciones del XLIII Congreso Nacional y XIX Congreso Internacional de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC). Zaragoza, España, 19-21 de Septiembre de 2018.

**Jiménez, L.**, Romero, J., Garzón, A., Poveda, J., Martínez, A., Núñez, N., Oliete, B., Pérez-Guzmán, M.D., Arias, R., 2016. Análisis de Correspondencias entre la composición de la leche de tanque, la alimentación de la Oveja Manchega y la Estación del año (Correspondence analysis between season and the composition of bulk tank milk and feeding system of Manchega Sheep). Libro de Comunicaciones del XLI Congreso Nacional y XVII Congreso Internacional de la Sociedad de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC). Talavera de la Reina, Toledo, España, 14-16 de septiembre de 2016. Pp 248-252. I.S.B.N: 978-84-608-8680-8.

**Jiménez, L.**, Oliete, B., Pérez-Guzmán, M.D., Arias, R., 2015. Influencia de la estación, tamaño de explotación y asociacionismo en el recuento de microorganismos en leche de tanque de oveja. Libro de comunicaciones de las XVI Jornadas sobre producción animal de la Asociación Interprofesional para el desarrollo agrario (AIDA-ITEA), Zaragoza, España, 19-20 de mayo de 2015. Tomo 2, Volumen 2: 585-587. ISBN Tomo II: 978-84-606-7971-4.

Arias, R., Gallego, R., Garzón, A., Romero, J., **Jiménez, L.**, Oliete, B., Arias, C., García, A., Montoro, V., Pérez-Guzmán, M.D., 2015. Calidad de la leche en ganaderías de Ovino Manchego. Libro de Actas del XI Congreso de la Federación Iberoamericana de Razas Criollas y Autóctonas (FIRC). Zaragoza, España, 19-21 de Marzo de 2015. ISBN: 978-84-606-7207-4.

**Jiménez, L.**, Oliete, B., Garzón, A., Romero, J., Calatayud, J.R., Pérez-Guzmán, M.D., Arias, R., 2012. Estimación de las características tecnológicas de la leche de tanque de Oveja Manchega a través de sus características cualitativas. Libro de Comunicaciones del XXXVII Congreso de la Sociedad de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC). Ciudad Real, España, 19-21 de Septiembre de 2012. Pp 189-193. I.S.S.N: 978-84-616-0281-0.

**Jiménez, L.**, Oliete, B., Garzón, A., Romero, J., Arias, C., Calatayud, J.R., Arias, R., 2011. Relación de los parámetros tecnológicos de leche de tanque de Oveja Manchega con su composición y carga microbiana. Resultados Preliminares. Libro de Comunicaciones del XXXVI Congreso de la Sociedad de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC). San Sebastián, España, 5-7 de Octubre de 2011. Pp 176-180. I.S.S.N: 13-978-84-615-4134-8.

Oliete, B., Arias, R., **Jiménez, L.**, Romero, J., Arias, C., Calatayud, J.R., Pérez-Guzmán, M.D., 2011. Variación en el recuento de diferentes grupos de microorganismos en la leche de tanque de Oveja Manchega en relación con las condiciones higiénicas de las ganaderías. Resultados Preliminares. Libro de Comunicaciones del XXXVI Congreso de la Sociedad de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC). San Sebastián, España, 5-7 de Octubre de 2011. Pp 181-184. I.S.S.N: 13-978-84-615-4134-8.

## COMUNICACIONES EN CONGRESOS INTERNACIONALES

**Jiménez, L.**, Garzón, A.I., Martínez, A.L., Núñez, N., Romero, J., Acuti, G., Román, M., Pérez-Guzmán, M.D., Arias, R. Variation in composition and colour indices of sheep raw milk influenced by productive

practices and feeding strategy. Comunicación en póster en el 22nd Congress of the Animal Science and Production Association (ASPA 2017) (Perugia – Italia). Publicado en la revista internacional: Italian Journal of Animal Science. Book of Abstract of ASPA 22nd Congress. Perugia, June 13-16, 2017. Volumen 16 (1): 208-209.2017. ISSN: 1594-4077 (eISSN 1828-051X).

**Jiménez, L.,** Garzón, A., Romero, J., Oliete, B., Pérez-Guzmán, M.D., Arias, R., 2015. Influence of several factors in the quality parameters of Manchega sheep milk. Book of Abstracts of the 66<sup>th</sup> Annual meeting of the European Federation of Animal Science. Varsovia, Polonia, 31 August – 4 September 2015. Pp 302.

**Jiménez, L.,** Garzón, A., Oliete, B., Romero, J., Jiménez-Rabadán, P., Ramón, M., Pérez-Guzmán, M.D., Arias, R., 2016. Differential microbiological groups affecting the clotting properties of sheep milk. Series A: Mediterranean Seminars. Proceedings of the International Seminar of the Sub-Network on Production Systems of the FAO-CIHEAM Interregional Cooperative Research and Development Network on Sheep and Goats, “The value chains of Mediterranean sheep and goat products: Organisation of the industry, marketing strategies, feeding and production systems”, Montpellier, France, 16-18 June 2015. Options Méditerranéennes. Number 115: 447-452. ISSN: 1016-121-X- ISBN: 2-85352-558-9.

**Jiménez, L.,** Oliete, B., Pérez-Guzmán, M.D., Arias, R., 2014. Study of the differential microbiological quality of sheep milk relative to the standard plate counts. Series A: Mediterranean Seminars. Proceedings of the 8<sup>th</sup> International Seminar of the Sub-Network on Production Systems of the FAO-CIHEAM Interregional Cooperative Research and Development Network on Sheep and Goats, “Technology creation and transfer in small ruminants: roles of research, development services and farmer associations”, Tánger, Marruecos, 11-13 June 2013. Options Méditerranéennes. Number 108: 175-181. ISSN: 1016-121-X-ISBN: 2-85352-525-2.

**Jiménez, L.,** Oliete, B., Garzón, A., Romero, J., Pérez-Guzmán, M.D., Arias, R., 2014. Calidad físico-química y colorimétrica de la leche de oveja Manchega. Book of Proceedings 4th Simposium of the Latinoamerican Association in Animal Science. ALPA-ECUADOR. Revista de Ciencia y Tecnología de la Universidad técnica Estatal de Quevedo. Quevedo, Ecuador, 13-15 de Noviembre de 2014. Suplemento Volumen 7(2): 381-389. ISSN: 1390-4051. ISBN: 978-9942-948-01-4. ISSN: 1390-4051 (ISSN Electrónico 1390-4043).

## **COMUNICACIONES PRESENTADAS A JORNADAS DOCTORALES**

**Jiménez, L.,** 2016. Caracterización productiva y evaluación de parámetros de calidad lechera en las ganaderías de ovino Manchego. Libro de comunicaciones del V Congreso Científico de Investigadores en Formación de la Universidad de Córdoba. Córdoba, España, 1 de Diciembre de 2016. Participación en el Comité Organizador del Congreso.

**Jiménez, L.,** 2016. Caracterización de los actuales sistemas de producción de Ovino Manchego en relación a la calidad de la leche. Libro de comunicaciones de las VI Jornadas Doctorales de la Universidad de Castilla-La Mancha. Toledo, España, 18 de Octubre de 2016.

**Jiménez, L.,** 2013. Evaluación de la Calidad higiénico-sanitaria y tecnológica de la leche de oveja de Raza Manchega y su influencia en la calidad del Queso Manchego. Libro de comunicaciones de las III Jornadas Doctorales de la Universidad de Castilla-La Mancha. Albacete, España, 22 de Octubre de 2013.

Por todo ello, se autoriza la presentación de la tesis doctoral.

Córdoba, 16 de diciembre de 2019

Firma del/de los director/es

Fdo.: Ramón Arias Sánchez

Fdo.: Antón Rafael García Martínez

Fdo.: Ana Isabel Garzón Sigler



A mi familia



## AGRADECIMIENTOS

A lo largo de esta investigación he contado con el apoyo y la ayuda de muchas personas, a las que debo mi gratitud y les dedico las siguientes líneas.

Las primeras palabras de gratitud se las dedico a mis directores de tesis, el Dr. Ramón Arias Sánchez, el Dr. Antón García Martínez y a la Dra. Ana Isabel Garzón Sigler, por su tiempo, dedicación, paciencia, energía y palabras de ánimo para la realización de este trabajo. Agradecer además a la Dra. M<sup>a</sup> Dolores Pérez-Guzmán por aportar sus conocimientos sobre el sector ovino Manchego y su apoyo en el ámbito estadístico.

Dar también las gracias a mis compañeros del CERSYRA, por sus palabras de ánimo durante y después de mi paso por el centro, por seguir teniéndome en cuenta incluso ahora que no nos cruzamos día a día. En especial, a todos lo que dedicaron, y continúan dedicando, parte de su tiempo al Laboratorio de Lactología, apoyándonos tanto física como moralmente. En especial, agradecer a la Dra. Bonastre Oliete, por hacerme más llevaderos mis primeros pasos en el mundo investigador, ser compañera y amiga.

Agradecer a mis compañeros del Consejo Regulador del Queso Manchego, por su interés hacia la evolución de este trabajo y sus palabras de ánimo.

A las Doctoras María Llanos Palop, Susana Seseña, Justa María Poveda, Esther Jiménez, Janet Williams, Shelley McGuire, así como a los Doctores Juan Miguel Rodríguez y Mark McGuire, por haberme abierto las puertas de sus correspondientes laboratorios, y brindado la oportunidad de recurrir a su capacidad y conocimiento científico.

Mi agradecimiento al Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) por haberme concedido la beca de doctorado y permitirme iniciarme en la investigación.

No debo de olvidar mi agradecimiento a los ganaderos y empresas lácteas que me han facilitado la recogida de muestras, así como a la Asociación Nacional de Criadores de Ganado Selecto de raza Manchega (AGRAMA) y al Consejo Regulador de la Denominación de Origen Queso Manchego, por su valiosa colaboración.

Agradecer también a la Universidad de Córdoba (España), al Programa de Doctorado de Recursos Naturales y Sostenibilidad y al IdEP - Instituto de Estudios de Postgrado.

Un agradecimiento especial a mis padres, Miguel y Loren, y a mis abuelos, Manolo y Justa, por mostrarme el camino hacia la superación. Todo lo que soy es gracias a ellos. A Víctor, Louise, José, Polo y Pepi, por sus palabras de cariño y por su apoyo estos años.

Finalmente, nombrar a Rocío J., Elena, Inma, Marta, Jesús, María, Yolanda, Davinia, Ana, Natalia, Jero, Rocío S., y a tantos otros que no nombro por falta de espacio, mis amigos, por estar en las buenas y en las malas, escucharme, apoyarme y permitirme aprender más de la vida a su lado. Ahora sé que hay amigos que se convierten en familia.





**A PhD is so much more than a degree. It can break you down into your most vulnerable form, but has the potential to build you back together to become a resilient, determined, humble, and knowledgeable researcher. This process takes time and patience. Please don't give up on yourself. It's not just about getting a degree. It's about becoming who you are meant to be.**

**-PhD SOS**

**“La educación es el arma más poderosa que puedes usar para cambiar el mundo”**

**-Nelson Mandela**





Instituto Nacional de Investigación  
y Tecnología Agraria y Alimentaria

**I R I A F**

Instituto Regional de Investigación y Desarrollo  
Agroalimentario y Forestal  
Castilla-La Mancha

**Esta tesis está enmarcada dentro del Proyecto de Investigación Fundamental orientada a los recursos y tecnologías agrícolas en coordinación con las Comunidades Autónomas del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (RTA2011-0057-C02-02) titulado “Evaluación de la calidad higiénico-sanitaria y tecnológica de la leche de raza Manchega como instrumento para la mejora de la viabilidad socio-económica y ambiental de los sistemas productivos de ovino lechero”, cuyos investigadores principales han sido el Dr. Ramón Arias Sánchez y el Dr. Antón Rafael García Martínez. 2011-2015.**



# **RESUMEN/ABSTRACT**



## RESUMEN

El sector ovino lechero tiene una gran relevancia socioeconómica en el medio rural, especialmente en la Comunidad Autónoma de Castilla-La Mancha, destacada por la elaboración de productos de calidad diferenciada, como el queso Manchego con Denominación de Origen Protegida.

En los últimos años se ha producido una importante transformación en el sector, con una disminución en el número de ganaderías y un aumento del número de ovejas en explotaciones más tecnificadas y especializadas hacia la producción de leche. Esto ha dado lugar a una modificación de los sistemas productivos y de manejo en las explotaciones, y en este contexto se plantea el presente estudio con el objetivo de evaluar la calidad de la leche de oveja Manchega en relación con su sistema de producción, así como estimar su aptitud tecnológica en base a las características físico-químicas e higiénico-sanitarias (microbiología diferencial y recuento de células somáticas) de la leche de tanque.

Tras una revisión de la situación actual de la calidad de la leche ovina en las principales áreas de producción, y en particular en la región natural de La Mancha, se seleccionaron 77 ganaderías de ovejas de raza Manchega entre las 798 totales inscritas en la Denominación de Origen Protegida Queso Manchego. En las ganaderías seleccionadas se realizó una encuesta sobre las características productivas dividida en seis bloques temáticos: características generales de la explotación, características estructurales, manejo de la alimentación, manejo reproductivo, aspectos higiénico-sanitarios, producción y conservación de la leche, y aspectos relativos a la sanidad mamaria. Paralelamente, y durante un periodo de un año (marzo 2012 – febrero 2013), y con periodicidad estacional, se recogieron un total de 308 muestras de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega, para determinar su calidad físico-química, colorimétrica, higiénico-sanitaria (microbiología diferencial y recuento de células somáticas) y características tecnológicas. Se han estudiado los resultados analíticos de las características físico-químicas (grasa, proteína total, extracto seco, caseína total, lactosa, relación proteína total/extracto seco y caseína total/grasa, urea y pH), colorimétricas (luminosidad, índice de rojo e índice de amarillo), características microbiológicas (recuento de mesófilos totales, termodúricos, psicotrofos, *Pseudomonas* spp., *Escherichia coli*, coliformes distintos de *Escherichia coli*, bacterias ácido lácticas, cocos gram-positivos catalasa-negativos, esporas butíricas, estafilococos coagulasa positivos y estafilococos coagulasa negativos), recuento de células somáticas de leche de tanque y características tecnológicas (tiempo de coagulación (RCT), velocidad de endurecimiento ( $K_{20}$ ), dureza del coágulo a los treinta minutos ( $A_{30}$ ), dureza del

coágulo a los 60 minutos ( $A_{60}$ ), y rendimiento de la cuajada (RCUA)). Los modelos estadísticos utilizados para el estudio de los parámetros de composición físico-química, colorimétrica, higiénico-sanitaria y tecnológica han tenido en cuenta factores generales relacionados con la explotación, factores relacionados con la sala de ordeño y la lechería, así como factores relacionados con la sanidad mamaria de los animales de producción.

Los resultados del estudio indican que la leche de tanque de oveja Manchega es rica en los principales componentes físico-químicos (grasa, proteína, extracto seco), siendo la grasa la que presenta una mayor variación entre las ganaderías estudiadas, y evidenciándose fuertes correlaciones entre ellos. Es de destacar la utilidad de otros parámetros analizados, como el contenido en caseína (indicador de aptitud tecnológica) o de urea en leche (estimador de eficiencia de la alimentación de las ovejas de ordeño). La determinación del color de la leche de tanque con métodos instrumentales objetivos, que tiene tendencia al blanco, verde y amarillo, y la existencia de relación entre estos índices y la composición de la leche de oveja podría permitir el desarrollo de una herramienta de análisis sencilla para predecir la calidad físico-química a partir de los índices colorimétricos. Asimismo, se han identificado una serie de factores que condicionan la calidad físico-química de la leche de tanque, como la estación del año (primavera-verano vs otoño-invierno), la pertenencia a la asociación de mejora de la raza (AGRAMA), el nivel productivo o el manejo de la alimentación de las ovejas de ordeño (uso de lotes de alimentación en función del nivel productivo de las ovejas de ordeño, utilización de subproductos, etc.).

La realización de un recuento microbiano general y diferencial en leche de tanque ha permitido observar cómo se relacionan entre sí, estimando además su utilidad en los sistemas de control de la calidad. De esta forma, se ha determinado que el recuento de mesófilos totales sería un buen indicador de la calidad higiénico-sanitaria de la leche al estar correlacionado con buena parte de grupos de microorganismos estudiados (psicrotrofos, termodúricos, coliformes, *Pseudomonas* spp., bacterias ácido lácticas, cocos gran-positivos catalasa-negativos) y con el recuento de células somáticas; sin embargo, no se ha constatado relación entre el recuento de mesófilos y el de estafilococos o de esporas butíricas, por lo que en un marco de gestión de riesgos en producción primaria, la determinación de estafilococos en leche de tanque sería útil como indicador de seguridad de procesos, y la determinación de esporas butíricas como indicador tecnológico. Asimismo, han sido identificados diversos factores de variación de la microbiología diferencial de la leche de tanque, que deberían ser considerados en un escenario de gestión de riesgos, tales como la época del año, la pertenencia a la asociación de mejora de la raza (AGRAMA), el nivel productivo, manejo de la alimentación, las condiciones higiénicas de



la explotación, manejo del ordeño y conservación de la leche, la aplicación de protocolos de limpieza y desinfección, la revisión periódica de equipos de ordeño y lechería, la aplicación de tratamientos farmacológicos de secado o de desinfección de pezones tras el ordeño.

El comportamiento tecnológico de la leche de tanque de oveja Manchega presenta, en general, altos valores para el tiempo de coagulación y el rendimiento de la cuajada, así como una alta variabilidad de la velocidad de endurecimiento de la cuajada. Se han observado correlaciones positivas entre el tiempo de coagulación y la velocidad de endurecimiento de la cuajada ( $r=0,70$ ), y negativas entre estos y la dureza de la cuajada ( $r=-0,88$  y  $r=-0,66$ , respectivamente); es de destacar la ausencia de correlación entre la dureza de la cuajada a treinta y sesenta minutos, condicionada por los altos tiempos de coagulación observados, así como el comportamiento del rendimiento de la cuajada, que sólo guarda relación con la dureza de la cuajada a los 60 minutos de entre los parámetros tecnológicos considerados.

Una mayor riqueza de la leche en cuanto a grasa, proteína y caseína da lugar a la obtención de cuajadas más rápidas y de mayor consistencia. El rendimiento de la cuajada aumenta cuando se incrementa el contenido en grasa y proteína total de la leche, siendo el parámetro tecnológico que mantiene correlaciones significativas más altas con la mayoría de los componentes de la leche. Por otra parte, los parámetros tecnológicos presentan correlaciones más altas con proteína y caseína que con la grasa de la leche.

Respecto a la cromaticidad, la luminosidad de la leche mantiene una correlación negativa y significativa con el rendimiento de la cuajada, y el índice de rojo presenta correlaciones negativas con tiempo de coagulación y velocidad de endurecimiento, y positivas con la dureza y con el rendimiento de la cuajada. Estos resultados podrían permitir el desarrollo de una herramienta de análisis sencilla y eficaz para predecir la aptitud tecnológica de la leche de tanque.

En general, el aumento de los microorganismos de la leche de tanque, mediada por un proceso de acidificación de la misma, provoca una disminución del tiempo de coagulación, la velocidad de endurecimiento y el rendimiento de la cuajada, así como un incremento de la dureza de la cuajada, siendo de destacar las correlaciones entre estos parámetros y determinados grupos microbianos específicos (*Pseudomonas* spp., coliformes, CGPCN, bacterias lácticas, y estafilococos).

La estación del año ha afectado significativamente a todas las características tecnológicas de la leche de tanque, disminuyendo el tiempo de coagulación y la velocidad de endurecimiento, y aumentando la dureza de la cuajada a 30 y 60 minutos en las cuajadas realizadas con la leche de

otoño, observando el mayor rendimiento de la cuajada con la leche de otoño e invierno frente a la primavera y verano.

Se han definido tres grupos tecnológicos con las muestras de leche de tanque con el fin de mejorar la comprensión del proceso de coagulación, que son los siguientes:

- Grupo 1 (G1).- Integrado por el 19% del total de las muestras analizadas y que cumplen la siguiente premisa:  $RCT < 30$  minutos;  $A_{30} > A_{60}$ . Presentan un tipo de coagulación muy rápida, con sinéresis rápida, y bajo rendimiento. Se caracterizan por tener los mayores recuentos de la gran mayoría de gérmes estudiados, salvo de esporas butíricas y estafilococos coagulasa positivos, y el menor valor de pH.
- Grupo 2 (G2).- Lo componen el 25% del total de las muestras analizadas y que cumplen la siguiente premisa:  $RCT < 30$  minutos;  $A_{30} < A_{60}$ . Presentan una coagulación rápida y un mayor rendimiento en cuajada de todos los grupos estudiados. Se caracterizan por tener los mayores porcentajes de grasa y proteína.
- Grupo 3 (G3).- Este grupo lo forman el 56% del total de muestras analizadas, y cumplen la siguiente premisa:  $RCT > 30$  minutos;  $A_{30} < A_{60}$ . Tienen una coagulación lenta y poseen un bajo rendimiento. Es el grupo de muestras con mayor porcentaje de lactosa e índices colorimétricos más elevados que el resto de grupos.

Las relaciones entre los parámetros tecnológicos presentan ciertas diferencias en función del grupo tecnológico que define la muestra de leche. Así, en el estudio de correlaciones se observa que mientras que entre RCT y  $K_{20}$  son similares en todos los grupos (positivas y significativas), entre RCT ó  $K_{20}$  con la dureza de la cuajada las correlaciones son superiores para el G2 respecto al G1, verificando como la acidificación de la leche (G1) provoca considerables problemas tecnológicos; son también de destacar las correlaciones positivas y significativas entre  $A_{30}$  y  $A_{60}$  para los grupos de coagulación más rápida ( $RCT < 30$  minutos), tanto en el G1 ( $r=0,51$ ) como en el G2 ( $r=0,59$ ). Además, para los Grupos 1 y 2 de coagulación más rápida se observan, por una parte, correlaciones positivas y significativas entre  $A_{30}$  ó  $A_{60}$  y los principales componentes de la leche, y por otro, correlaciones negativas entre RCT ó  $K_{20}$  con la microbiología de la leche, siendo el G1 el más condicionado por los grupos microbianos generales y específicos, y en el que RCUA mantiene correlaciones negativas y significativas con diversos grupos microbianos.

Por último, se han realizado unas estimaciones para predecir la aptitud tecnológica de la leche en función de su calidad físico-química e higiénico-sanitaria. Estas han resultado bajas para los parámetros tecnológicos cualitativos (RCT,  $K_{20}$ ,  $A_{30}$  y  $A_{60}$ ), pero no así para el rendimiento en

cuajada, con estimaciones muy relevantes para todos los grupos tecnológicos, sobre todo para el Grupo 2 ( $R^2=0,66$ ), dependiendo en gran medida del porcentaje en caseína.

A modo de conclusión, la calidad de la leche de oveja no puede ser evaluada, de forma independiente, en función de su composición físico-química, calidad higiénico-sanitaria o calidad tecnológica, sino que ha de ser valorada integrando todas estas características, y teniendo en cuenta los factores relacionados con el sistema de producción y de manejo de las ganaderías, ya que condicionan la calidad integral de la leche como materia prima de calidad contrastada para elaboración de quesos.

## ABSTRACT

The dairy sheep sector has a great socio-economic relevance in rural areas, especially in Castilla-La Mancha Region, which is notable mainly for making products with differentiated quality, such as Protected Designation of Origin (PDO) Manchego cheese.

In recent years had been a high transformation of this sector based on reducing the number of farms and increasing the flock size, toward more technical farms specialized in milk production. This has led to a change in farm production and management systems, and within this context, the present study aims to evaluate the quality of Manchega sheep's milk in relation to the production system, as well as to estimate its technological aptitude based on physico-chemical and hygienic-sanitary characteristics (differential microbiology and somatic cell counts).

Following a literature review of the current situation about the quality of sheep milk in the main production areas, and in particular the natural region of La Mancha, 77 Manchega sheep dairy herds were selected from a total of 798 Manchega sheep farms registered under the PDO Manchego Cheese. A survey about on-farm management practices of the selected dairy herds were filled, using a questionnaire divided in six thematic blocks: general characteristics of the farm, structural characteristics, feeding management, reproductive management, hygienic and sanitary aspects, milk production and storage, and mammary health. Concurrently, for a period of one year (March 2012 – February 2013) and seasonal periodicity, a total of 308 samples of bulk-tank milk were collected from Manchega sheep dairy herds, to assess their physico-chemical, colorimetric, hygienic-sanitary (differential microbiology and somatic cell counts) and technological characteristics. The analytical results of the physico-chemical characteristics (fat, total protein, total solids, total casein, lactose, total protein/total solids and total casein/fat ratios, urea and pH), colorimetric characteristics (luminosity, red index and yellow index), microbiological characteristics (total bacterial, thermotolerants, psychrotrophs, *Pseudomonas* spp., *Escherichia coli*, coliforms other than *Escherichia coli*, lactic acid bacteria, gram-positive-catalase-negative cocci, butyric acid bacteria spores, coagulase-positive staphylococci and coagulase-negative staphylococci counts), bulk-tank somatic cell count and technological characteristics (rennet clotting time (RCT), curd firming time ( $K_{20}$ ), curd firmness at 30 minutes ( $A_{30}$ ), curd firmness at 60 minutes ( $A_{60}$ ), and curd yield ( $R_{CUA}$ )) were studied. The statistical models used for the study of physico-chemical, hygienic-sanitary and technological parameters have taken into account general factors related to the farm, the milking room and milk house, as well as factors related to mammary health of production animals.

The results of this study indicate that Manchega sheep's bulk-tank milk is rich in the main chemical components (fat, protein and total solids), with fat having the greatest variation among the farms studied, and strong correlations between them are evident too. It should be noted the usefulness of other parameters analyzed, such as the content of total casein (indicator of the technological aptitude) or urea in milk (an estimator of feeding efficiency of dairy sheep). The determination of the bulk-tank color milk with objective instrumental methods, which has tendency to white, green and yellow, and the existence of a relationship between these indices and the composition of sheep's milk, could allow the development of a simple analysis tool to predict the physico-chemical quality from the colorimetric indices. Likewise, a number of factors have been identified as determinants of physico-chemical quality of bulk-tank milk, such as the season (spring-summer vs autumn-winter), the membership in the National Association of Selected Sheep Breeders of Manchega Breed (AGRAMA), the level of milk production or feeding management of dairy sheep (the use of group-feeding, feeding by-products, etc.).

The attainment of a general and differential microbial count in bulk-tank milk has allowed to observe how they relate to each other, considering also their usefulness in quality control systems. In this way, it has been determined that total bacterial count should be a good indicator of the hygienic-sanitary quality of bulk-tank milk, being correlated with most of the differential microbial groups studied (psychrotrophs, thermotolerants, coliforms, *Pseudomonas* spp., lactic acid bacteria, gram-positive-catalase-negative cocci) and bulk-tank milk somatic cell counts; however, no relationship between total bacterial count and staphylococci count or butyric acid bacteria spores has been established before, and therefore in a primary production risk management framework, the determination of staphylococci in bulk-tank milk should be used as an indicator of the safety of process, and the assessment of butyric acid bacteria spores as a technological indicator. In addition, several factors of variation in the differential microbiology of bulk-tank milk have been identified, which should be considered in a risk management scenario, such as the time of year, the membership in a National Association of Selected Sheep Breeders of Manchega Breed (AGRAMA), level of milk production, feeding management, hygienic conditions of farm, milking management and preservation of bulk-milk, application of cleaning and disinfection protocols, periodic review of milking parlor and milk house, the application of pharmacological treatments for drying or disinfecting nipples after milking.

The technological behavior of Manchega sheep' bulk-tank milk presents, in general, high values for rennet clotting time and curd yield, as well as a high variability in curd firming time. Positive correlations have been observed between rennet clotting and curd firming times ( $r=0.70$ ), and negative correlations between these and curd firmness ( $r=0.88$  and  $r=0.66$ , respectively); it

should be noted the absence of correlation between curd firmness at 30 and 60 minutes, as a result of the high rennet clotting times observed, as well as the behavior of curd yield, which only relates with curd firmness at 60 minutes among the technological parameters considered.

Greater milk richness in terms of fat, protein and casein contents lead to obtaining faster and more consistent curds. Curd yield increases when fat and total protein contents of milk increased, being the technological parameters that keeps higher significant correlations with most of the components of the milk. On the other hand, technological parameters have higher correlations with total protein and casein than with the fat of the milk.

Regarding chromaticity, the luminosity of milk keeps a negative and significant correlation with curd yield, and the red index has negative correlations with rennet clotting and curd firming times, and positive correlations with curd firmness and curd yield. These results could allow the development of a simple and effective analytical tool to predict the technological suitability of bulk-tank milk.

In general, the increase of microbial counts in bulk-tank milk, mediated by a process of acidification thereof, generates a decrease in rennet clotting time, curd firming time and curd yield, as well as an increase in curd firmness, being to emphasize the correlations between these parameters and some of the differential microbial counts (*Pseudomonas* spp., coliforms, gram-positive-catalase-negative cocci and staphylococci).

The season has significantly affected all the technological characteristics of bulk-tank milk, decreasing rennet clotting and curd firming times, and increasing curd firmness at 30 and 60 minutes in curds made with autumn milk, observing the higher curd yield with autumn and winter compared to spring and summer milk.

Three technology groups have been defined with bulk-tank milk in order to improve understanding of the coagulation process, which are as follows:

-Group 1 (G1). - represents about 19% of all analyzed samples, fulfilling the following premise:  $RCT < 30$  minutes;  $A_{30} > A_{60}$ . The samples have a fast coagulation, with fast syneresis and low curd yield. They are characterized by having the highest microbial counts, except for butyric acid bacteria spores and coagulase positive staphylococci, and the lowest pH value.

-Group 2 (G2). – represents about 25% of all analyzed samples, fulfilling the following premise:  $RCT < 30$  minutes;  $A_{30} < A_{60}$ . The samples have a fast coagulation and have the highest curd yield compared with the rest of the studied groups. They are characterized by having the highest fat and protein percentages.

-Group 3 (G3). - represents about 56% of all analyzed samples, fulfilling the following premise:  $RCT > 30$  minutes;  $A_{30} < A_{60}$ . The samples have a slow coagulation and low curd yield. It is the group of samples with higher percentage of lactose and colorimetric indices than the rest of groups.

The relationships between technological parameters differ depending on the technological group defining the milk sample. Thus, in this study of correlations, it is observed that while  $RCT$  and  $K_{20}$  are similar in all groups of samples (positive and significant), between  $RCT$  or  $K_{20}$  with curd firmness the correlations are higher for G2 than G1, verifying how the acidification of milk (G1) produces considerable technological problems; also noteworthy the positive and significant correlations between  $A_{30}$  and  $A_{60}$  for fast coagulation groups ( $RCT < 30$  minutes), in both G1 ( $r=0.51$ ) and G2 ( $r=0.59$ ). In addition, for G1 and G2 with faster coagulation, on the one hand, there are positive and significant correlations between  $A_{30}$  or  $A_{60}$  and the main components of milk, and on the other hand, negative correlations between  $RCT$  or  $K_{20}$  with the microbiology of the milk, being G1 the most conditioned by general and specific microbial groups, and in which RCUA maintains negative and significant correlations with different microbial groups.

Finally, statistical estimates have been made to predict the technological suitability of milk in terms of its physico-chemical and hygienic-sanitary quality. These have been low for qualitative technological parameters ( $RCT$ ,  $K_{20}$ ,  $A_{30}$  and  $A_{60}$ ), but not so for curd yield, with greater statistical estimates for all technological groups, especially for G2 ( $R^2=0.66$ ), depending greatly on the percentage of casein.

By way of conclusion, the quality of sheep's milk cannot be assessed independently on the basis of its physico-chemical composition, hygienic-sanitary or technological quality, but it should be estimated integrating all these characteristics as a whole, and taking into account factors related to the production and management system of dairy farms, since they determine the integral quality of milk as a raw material of proven quality for cheese making.





# ÍNDICE

---



# ÍNDICE

<b>PARTE I: INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS</b>	<b>1</b>
<b>PARTE II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>5</b>
<b>CAPÍTULO 1: SITUACIÓN DEL OVINO LECHERO</b>	<b>5</b>
1.1. Situación del ovino lechero en España	5
1.2. Situación del ovino lechero en Castilla-La Mancha	7
1.3. Aspectos socioeconómicos, productivos y de manejo del ovino lechero en Castilla-La Mancha	9
<b>CAPÍTULO 2: CALIDAD DE LA LECHE. PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS Y FACTORES DE VARIACIÓN</b>	<b>11</b>
2.1. Características físico-químicas	12
2.1.1. Grasa	12
2.1.2. Materias nitrogenadas	14
2.1.3. Carbohidratos	16
2.1.4. Componentes minoritarios de la leche	17
2.1.5. pH de la leche	17
2.1.6. Principales factores que influyen en la variación de las características físico-químicas de la leche	17
2.2. Características colorimétricas	22
2.2.1. Principales factores que influyen en la variación de las características colorimétricas de la leche	22
2.3. Características higiénico-sanitarias de la leche cruda	24
2.3.1. Características microbiológicas	25
2.3.1.1. Recuento de gérmenes totales	27
a) Gérmenes mesófilos totales (MESO)	27
b) Gérmenes termodúricos (TERMO)	28
c) Gérmenes psicrotrofos (PSICRO)	29
2.3.1.2. Recuento de grupos microbianos específicos	31
a) Bacterias ácido lácticas (BAL)	31
b) Cocos gram-positivos catalasa-negativos (GPCNC)	33
c) Estafilococos (SC)	34

d) Coliformes (COLIT).....	37
e) Otros gram-Negativos .....	39
f) Esporas butíricas (BAB).....	40
2.3.2. Recuento de células somáticas (RCS).....	41
2.4. Características de coagulación de la leche .....	46
2.4.1. Evaluación de las características tecnológicas de la leche.....	48
2.4.2. Principales factores que influyen en la variación de las características tecnológicas de la leche.....	52
 CAPÍTULO 3: SISTEMAS DE CONTROL DE LA CALIDAD DE LA LECHE.....	58
 PARTE III: MATERIAL Y MÉTODOS.....	63
 CAPÍTULO 4: MATERIAL.....	63
4.1. Localización del estudio.....	63
4.2. Diseño experimental y recogida de información.....	63
4.3. Recogida de muestras de leche.....	64
 CAPÍTULO 5: MÉTODOS.....	65
5.1. Determinación de los parámetros físico-químicos y recuento de células somáticas totales de la leche de tanque.....	65
5.2. Análisis colorimétrico.....	66
5.3. Análisis de pH.....	66
5.4. Análisis microbiológico diferencial.....	66
5.5. Análisis de las características tecnológicas.....	69
5.6. Análisis estadístico.....	71
5.6.1. Características físico-químicas y colorimétricas .....	72
5.6.2. Características higiénico-sanitarias .....	73
5.6.3. Características de coagulación de la leche .....	76

<b>PARTE IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>79</b>
<b>CAPÍTULO 6: CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS GANADERÍAS.....</b>	<b>79</b>
<b>CAPÍTULO 7: ESTUDIO DE LA CALIDAD FÍSICO-QUÍMICA Y COLORIMÉTRICA DE LA LECHE DE TANQUE Y SU RELACIÓN CON LAS CARACTERÍSTICAS PRODUCTIVAS DE LA RAZA OVINA MANCHEGA.....</b>	<b>95</b>
7.1. Descripción de las características físico-químicas y colorimétricas de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	95
7.2. Correlaciones entre las características físico-químicas y los índices colorimétricos de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	102
7.3. Factores de variación relacionados con las características generales de las ganaderías y con la estación del año, que afectan a las distintas características físico-químicas e índices colorimétricos en leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	106
7.4. Análisis de correspondencias entre las categorías de las distintas características físico-químicas e índices colorimétricos en leche de tanque, y los factores relacionados con el sistema productivo de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	122
<b>CAPÍTULO 8: ESTUDIO DE LA CALIDAD HIGIÉNICO-SANITARIA DE LA LECHE DE TANQUE Y SU RELACIÓN CON LAS CARACTERÍSTICAS PRODUCTIVAS DE LA RAZA OVINA MANCHEGA.....</b>	<b>127</b>
8.1. Descripción de la microbiología diferencial y del recuento de células somáticas de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	127
8.2. Correlaciones entre las características microbiológicas y el recuento de células somáticas de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	137
8.3. Factores de variación que afectan a los distintos grupos microbianos y células somáticas en leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	142
8.3.1. Factores relacionados con las características generales de las ganaderías y con la estación del año .....	142
8.3.2. Factores relacionados con la sala de ordeño y la lechería.....	157
8.3.3. Factores relacionados con la prevención y control de infecciones intramamarias....	168
8.4. Análisis de correspondencias entre las categorías de las distintas características microbiológicas y recuento de células somáticas en leche de tanque y los factores relacionados con el sistema productivo de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	175
8.4.1. Análisis de correspondencias entre los grupos de gérmenes generales y específicos.....	175

8.4.2. Análisis de correspondencias entre los gérmenes representantes y los factores relacionados con la alimentación e higiene de las ovejas de ordeño .....	176
8.4.3. Análisis de correspondencias entre los gérmenes representantes y los factores relacionados con la sala de ordeño y la lechería.....	178
8.4.4. Análisis de correspondencias entre los gérmenes representantes y los factores relacionados con la prevención y control de infecciones intramamarias.....	179
 <b>CAPÍTULO 9: ESTUDIO DE LA CALIDAD TECNOLÓGICA DE LA LECHE Y SU RELACIÓN CON LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS, COLORIMÉTRICAS, HIGIÉNICO-SANITARIAS Y PRODUCTIVAS DE LAS GANADERÍAS DE RAZA OVINA MANCHEGA .....</b>	<b>182</b>
9.1. Descripción de las características tecnológicas de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	182
9.2. Relaciones entre los parámetros físico-químicos, colorimétricos, higiénico-sanitarios y tecnológicos de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	187
9.2.1. Correlaciones de los parámetros tecnológicos y las características de calidad de la leche .....	187
9.2.2. Análisis de correspondencias de los parámetros tecnológicos y las características de calidad de la leche.....	195
9.3. Factores de variación que afectan a las distintas características tecnológicas en leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	205
9.4. Diferenciación del comportamiento tecnológico de la leche y relación con sus características físico-químicas, colorimétricas, higiénico-sanitarias y tecnológicas.....	216
9.4.1. Descripción de las características tecnológicas de los grupos de coagulación .....	217
9.4.2. Relaciones entre las características tecnológicas y la calidad físico-química e higiénico-sanitaria de los grupos de coagulación.....	227
9.5. Estimación de las características tecnológicas de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	234
 <b><u>PARTE V: CONCLUSIONES</u>.....</b>	<b>243</b>
 <b><u>PARTE VI: BIBLIOGRAFÍA</u>.....</b>	<b>247</b>

# RELACIÓN DE TABLAS

## PARTE II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### **CAPÍTULO 1: SITUACIÓN DEL OVINO LECHERO.**

### **CAPÍTULO 2: CALIDAD DE LA LECHE. PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS Y FACTORES DE VARIACIÓN.**

**TABLA 1.** Composición media de la leche de oveja, cabra y vaca.....13

**TABLA 2.** Sistema de pago por calidad para la leche de oveja en los Pirineos Atlánticos, Francia.....38

**TABLA 3.** Prevalencia de infecciones intramamarias en función del RCST.....43

**TABLA 4.** Valores de tiempo de coagulación (RCT) y de la velocidad de endurecimiento ( $K_{20}$ ) de la cuajada de la leche de diversas especies y razas rumiantes.....50

**TABLA 5.** Valores de dureza del coágulo a los 30 minutos ( $A_{30}$ ), dureza del coágulo a los 60 minutos ( $A_{60}$ ) y del rendimiento de la cuajada (RCUA) de la leche de diversas especies y razas rumiantes.....51

**TABLA 6.** Correlaciones fenotípicas entre las características tecnológicas y los componentes físico-químicos de la leche de oveja.....54

### **CAPÍTULO 3: SISTEMAS DE CONTROL DE LA CALIDAD DE LA LECHE.**

**TABLA 7.** Sistemas de pago por calidad de leche de oveja de distintas queserías de Castilla-La Mancha.....60

## PARTE III: MATERIAL Y MÉTODOS

### **CAPÍTULO 4: MATERIAL**

### **CAPÍTULO 5: MÉTODOS**

**TABLA 8.** Condiciones para el recuento de los diferentes grupos microbianos.....67

**TABLA 9.** Clasificación de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de su comportamiento en la coagulación.....71

## PARTE IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### **CAPÍTULO 6: CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS GANADERÍAS**

**TABLA 10.** Distribución de las ganaderías estudiadas en función de su tamaño censal.....88

**TABLA 10.1.** Distribución de ganaderías según tamaño de explotación, producción y características demográficas.....88

<b>TABLA 10.2.</b> Distribución de ganaderías según condiciones de alojamientos y Equipamiento.....	<b>89</b>
<b>TABLA 10.3.</b> Distribución de ganaderías en función del manejo de la alimentación.....	<b>90</b>
<b>TABLA 10.4.</b> Distribución de ganaderías en función del manejo de la reproducción.....	<b>91</b>
<b>TABLA 10.5. y TABLA 10.5.</b> (Continuación) Distribución de ganaderías en función de aspectos relacionados con el ordeño y conservación de la leche.....	<b>92-93</b>
<b>TABLA 10.6.</b> Distribución de ganaderías en función de aspectos relacionados con la sanidad mamaria.....	<b>94</b>

## **CAPÍTULO 7: ESTUDIO DE LA CALIDAD FÍSICO-QUÍMICA DE LA LECHE DE TANQUE Y SU RELACIÓN CON LAS CARACTERÍSTICAS DE LA RAZA OVINA MANCHEGA.**

<b>TABLA 11.</b> Estadísticos descriptivos de las características físico-químicas y colorimétricas de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	<b>95</b>
<b>TABLA 12.</b> Coeficientes de correlación entre las características físico-químicas y los índices colorimétricos de leche de tanque de las ganaderías de la raza ovina Manchega.....	<b>104</b>
<b>TABLA 13.</b> Valores de F (% de la varianza explicada) y nivel de significación de los factores de variación estudiados para las características físico-químicas y los índices colorimétricos de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	<b>107</b>
<b>TABLA 14.</b> Media de mínimos cuadrados de las características físico-químicas de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega según la estación, pertenece (o no) a AGRAMA, la producción media por oveja y año, y la estrategia de alimentación.....	<b>108</b>
<b>TABLA 15.</b> Media de mínimos cuadrados de los índices colorimétricos de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega según la estación, pertenece (o no) a AGRAMA, la producción media por oveja y año, y la estrategia de alimentación.....	<b>109</b>

## **CAPÍTULO 8: ESTUDIO DE LA HIGIÉNICO-SANITARIA DE LA LECHE DE TANQUE Y SU RELACIÓN CON LAS CARACTERÍSTICAS DE LA RAZA OVINA MANCHEGA.**

<b>TABLA 16.</b> Estadísticos descriptivos de las características microbiológicas y el recuento de células somáticas de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	<b>127</b>
<b>TABLA 17.</b> Coeficientes de correlación entre las características microbiológicas y el recuento de células somáticas de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	<b>138</b>
<b>TABLA 18.</b> Valores de F (% de la varianza explicada) y nivel de significación de los factores de variación relacionados con la estación y las características generales de las ganaderías, estudiados para las	



características microbiológicas y el recuento de células somáticas de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	143
---	-----

<b>TABLA 19.</b> Media de mínimos cuadrados de los recuentos microbianos y del recuento de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega según la estación, pertenece (o no) a AGRAMA, la producción media por oveja y año, y los factores relacionados con la alimentación y las condiciones higiénicas del alojamiento de las ovejas de ordeño.....	144
--	-----

<b>TABLA 20.</b> Valores de F (% de la varianza explicada) y nivel de significación de los factores de variación relacionados con la estación y el conjunto de variables representativas del ordeño higiénico, estudiadas para los recuentos microbianos y el recuento de células somáticas de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	158
--	-----

<b>TABLA 21.</b> Media de mínimos cuadrados de los recuentos microbianos y del recuento de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega según la estación y el conjunto de variables representativas del ordeño higiénico.....	159
--	-----

<b>TABLA 22.</b> Valores de F (% de la varianza explicada) y nivel de significación de los factores de variación relacionados con la estación y conjunto de variables representativas de buenas prácticas sanitarias, estudiadas para los recuentos microbianos y el recuento de células somáticas de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	168
---	-----

<b>TABLA 23.</b> Media de mínimos cuadrados de los recuentos microbianos y del recuento de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega según la estación y el conjunto de variables representativas del manejo sanitario de la explotación.....	173
--	-----

## **CAPÍTULO 9: ESTUDIO DE LA CALIDAD TECNOLÓGICA DE LA LECHE Y SU RELACIÓN CON LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS, COLORIMÉTRICAS, HIGIÉNICO-SANITARIAS Y PRODUCTIVAS DE LAS GANADERÍAS DE RAZA OVINA MANCHEGA.**

<b>TABLA 24.</b> Estadísticos descriptivos de las características tecnológicas de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	182
---	-----

<b>TABLA 25.</b> Coeficientes de correlación entre las características tecnológicas de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	187
--	-----

<b>TABLA 26.</b> Coeficientes de correlación entre las características tecnológicas, y las características físico-químicas y los índices colorimétricos de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	189
--	-----

<b>TABLA 27.</b> Coeficientes de correlación entre las características tecnológicas, y las características higiénico-sanitarias de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	191
--	-----

<b>TABLA 28.</b> Valor de F (% de la varianza explicada) y nivel de significación del efecto de la estación del año y del nivel de las características físico-químicas e higiénico-sanitarias sobre las características tecnológicas de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	<b>206</b>
<b>TABLA 29.</b> Media de mínimos cuadrados de las características tecnológicas según la estación y del nivel de composición físico-química de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	<b>207</b>
<b>TABLA 30.</b> Media de mínimos cuadrados de las características tecnológicas según los diferentes niveles de las características higiénico-sanitarias de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	<b>213</b>
<b>TABLA 31.</b> Clasificación de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de su comportamiento en la coagulación.....	<b>216</b>
<b>TABLA 32.</b> Estadísticos descriptivos de las características tecnológicas por grupos tecnológicos de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	<b>219</b>
<b>TABLA 33.</b> Estadísticos descriptivos de las características físico-químicas y de los índices colorimétricos por grupos tecnológicos de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	<b>221</b>
<b>TABLA 34.</b> Estadísticos descriptivos de las características higiénico-sanitarias por grupos tecnológicos de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	<b>223</b>
<b>TABLA 35.</b> Coeficientes de correlación de las características tecnológicas entre sí, por grupos tecnológicos, de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	<b>228</b>
<b>TABLA 36.</b> Coeficientes de correlación de las características físico-químicas e índices colorimétricos con las características tecnológicas, por grupos tecnológicos, de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega .....	<b>230</b>
<b>TABLA 37.</b> Coeficientes de correlación de las características microbiológicas con las características tecnológicas, por grupos tecnológicos, de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	<b>231</b>
<b>TABLA 38.</b> Estimaciones del tiempo de coagulación (RCT) en función de las características de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	<b>235</b>
<b>TABLA 39.</b> Estimaciones de la velocidad de endurecimiento de la cuajada ( $K_{20}$ ) en función de las características de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	<b>236</b>
<b>TABLA 40.</b> Estimaciones de la dureza de la cuajada a los treinta minutos ( $A_{30}$ ) en función de las características de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	<b>238</b>

<b>TABLA 41.</b> Estimaciones de la dureza de la cuajada a los sesenta minutos ( $A_{60}$ ) en función de las características de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	<b>239</b>
--	------------

<b>TABLA 42.</b> Estimaciones del rendimiento de la cuajada (RCUA) en función de las características de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	<b>241</b>
---	------------

# RELACIÓN DE FIGURAS

## PARTE II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### **CAPÍTULO 1: SITUACIÓN DEL OVINO LECHERO.**

<b>FIGURA 1.</b> Esquema de organización del sector ovino manchego.....	<b>8</b>
---	----------

### **CAPÍTULO 2: CALIDAD DE LA LECHE. PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS Y FACTORES DE VARIACIÓN.**

<b>FIGURA 2.</b> Representación gráfica del espacio tridimensional CIELAB ( $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ ).....	<b>22</b>
--	-----------

<b>FIGURA 3.</b> Diagrama de coagulación de diferentes muestras de leche obtenidas con Formagraph..	<b>48</b>
---	-----------

<b>FIGURA 4.</b> Diagrama de los parámetros de coagulación de la leche.....	<b>49</b>
---	-----------

### **CAPÍTULO 3: SISTEMAS DE CONTROL DE LA CALIDAD DE LA LECHE.**

## PARTE III: MATERIAL Y MÉTODOS

### **CAPÍTULO 4: MATERIAL**

<b>FIGURA 5.</b> Región natural de La Mancha de la Comunidad Autónoma de Castilla- La Mancha, España .....	<b>63</b>
--	-----------

### **CAPÍTULO 5: MÉTODOS**

<b>FIGURA 6.</b> Diluciones seriadas para el análisis microbiológico diferencial.....	<b>68</b>
---	-----------

<b>FIGURA 7.</b> Recuento de esporas butíricas mediante el método del Número Más Probable.....	<b>69</b>
--	-----------

<b>FIGURA 8.</b> Lactodinamógrafo Formagraph y detalle del módulo de registro.....	<b>70</b>
--	-----------

<b>FIGURA 9.</b> Diagrama de coagulación y dureza del coágulo recogida por el Formagraph.....	<b>71</b>
---	-----------

## PARTE IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### **CAPÍTULO 6: CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS GANADERÍAS**

### **CAPÍTULO 7: ESTUDIO DE LA CALIDAD FÍSICO-QUÍMICA Y COLORIMÉTRICA DE LA LECHE DE TANQUE Y SU RELACIÓN CON LAS CARACTERÍSTICAS PRODUCTIVAS DE LA RAZA OVINA MANCHEGA.**

<b>FIGURA 10.</b> Frecuencia de distribución de grasa (A); proteína total (B); extracto seco (C); caseína total (D); lactosa (E); ratio proteína total/extracto seco (F) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	<b>98</b>
---	-----------

<b>FIGURA 11.</b> Frecuencia de distribución de relación caseína total/grasa (A); urea (B); pH (C); luminosidad (L*, D); índice de rojo (a*, E); índice de amarillo (b*, F) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	<b>99</b>
<b>FIGURA 12.</b> Composición en grasa (G), proteína total (Pt), Caseína total (Ct), Lactosa (La) y extracto seco (Es) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega según la estación del año.....	<b>110</b>
<b>FIGURA 13.</b> Composición en grasa (G), proteína total (Pt), Caseína total (Ct), Lactosa (La) y urea (U) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega según la estación del año.....	<b>110</b>
<b>FIGURA 14.</b> Composición en grasa (G), proteína total (Pt), Caseína total (Ct), Lactosa (La) y pH de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega según la estación del año.....	<b>111</b>
<b>FIGURA 15.</b> Parámetros colorimétricos luminosidad (L*), índice de rojo (a*) e índice de amarillo (b*) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega según la estación del año.....	<b>112</b>
<b>FIGURA 16.</b> Composición en grasa (G), proteína total (Pt), Caseína total (Ct), Lactosa (La) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de su pertenencia a AGRAMA.....	<b>113</b>
<b>FIGURA 17.</b> Parámetros colorimétricos luminosidad (L*), índice de rojo (a*) e índice de amarillo (b*) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de su pertenencia a AGRAMA.....	<b>113</b>
<b>FIGURA 18.</b> Composición en grasa (G), proteína total (Pt), Caseína total (Ct), Lactosa (La) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función del nivel de producción de leche de la ganadería (PMOA: PMOAB<133 litros/oveja/año; PMOAA>133 litros/oveja/año).....	<b>114</b>
<b>FIGURA 19.</b> Parámetros colorimétricos luminosidad (L*), índice de rojo (a*) e índice de amarillo (b*) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función en función del nivel de producción de leche de la ganadería .....	<b>115</b>
<b>FIGURA 20.</b> Composición en grasa (G), proteína total (Pt), caseína total (Ct), lactosa (La) y extracto seco (Es) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de la aplicación de lotes de alimentación .....	<b>116</b>
<b>FIGURA 21.</b> Composición en grasa (G), proteína total (Pt), caseína total (Ct), lactosa (La) y urea (U) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de la utilización de subproductos.....	<b>118</b>
<b>FIGURA 22.</b> Ratios proteína total/extracto seco (Pt/Es) y caseína total/grasa (Ct/G) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función del tipo de forraje.....	<b>119</b>
<b>FIGURA 23.</b> Composición en grasa (G), proteína total (Pt), caseína total (Ct), lactosa (La) y urea (U) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función del tipo de forraje.....	<b>119</b>

**FIGURA 24.** Parámetros colorimétricos luminosidad (L\*), índice de rojo (a\*) e índice de amarillo (b\*) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función del tipo de forraje.....**120**

**FIGURA 25.** Análisis de correspondencias de las variables estudiadas según estación (cuadrados rojos donde PRI= Primavera, VER= Verano, OT= Otoño y INV= invierno) y las características físico-químicas e índices colorimétricos (círculos azules donde G1= grasa baja, G2= grasa alta; Pt1= proteína total baja, Pt2= proteína total alta; Ct1= caseína total baja, Ct2= caseína total alta; La1= lactosa baja, La2= lactosa alta; U1= urea baja, U2 urea alta; L1= baja luminosidad, L2= alta luminosidad; A1= índice de rojo bajo (verde), A2= índice de rojo alto (rojo); B1= índice de amarillo bajo (azul), B2= índice de amarillo alto (amarillo).....**122**

**FIGURA 26.** Análisis de correspondencias de las variables estudiadas según el manejo de la alimentación, la dimensión productiva y la producción media por oveja y año (cuadrados rojos donde LtN= no aplica lotes de alimentación, LtS= aplica lotes de alimentación; TaUC= unifeed comercial, TaUP= unifeed propio, TaFC=mezcla de forraje y concentrado; FoH= forraje henificado, FoE= forraje ensilado; TE1= explotación<600 ovejas, TE2= explotación entre 600-1.200 ovejas, TE3= explotación≥1.00 ovejas; PMOAB< 133 litros/oveja/año, PMOAA≥ 133 litros/oveja/año) y las características físico-químicas (círculos azules donde G1= grasa baja, G2= grasa alta; Pt1= proteína total baja, Pt2= proteína total alta; Ct1= caseína total baja, Ct2= caseína total alta; La1= lactosa baja, La2= lactosa alta; U1= urea baja, U2= urea alta).....**124**

**FIGURA 27.** Análisis de correspondencias de las variables estudiadas según el manejo de la alimentación, la dimensión productiva y la producción media por oveja y año (cuadrados rojos donde LtN= no aplica lotes de alimentación, LtS= aplica lotes de alimentación; TaUC= unifeed comercial, TaUP= unifeed propio, TaFC =mezcla de forraje y concentrado; FoH= forraje henificado, FoE= forraje ensilado; TE1= explotación<600 ovejas, TE2= explotación entre 600-1.200 ovejas, TE3= explotación≥1.00 ovejas; PMOAB< 133 litros/oveja/año, PMOAA≥ 133 litros/oveja/año) y los índices colorimétricos (círculos azules donde L1= baja luminosidad, L2= alta luminosidad; A1= índice de rojo bajo (verde), A2= índice de rojo alto (rojo); B1= índice de amarillo bajo (azul), B2= índice de amarillo alto (amarillo).....**125**

## **CAPÍTULO 8. ESTUDIO DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA Y EL RECuento DE CÉLULAS SOMÁTICAS DE LA LECHE DE TANQUE Y SU RELACIÓN CON LAS CARACTERÍSTICAS DE LA RAZA OVINA MANCHEGA.**

**FIGURA 28.** Frecuencia de distribución del recuento de MESO (mesófilos, A); TERMO (termodúricos, B); PSICRO (psicrotrofos, C); PSEUDO (Pseudomonas spp., D); ECOLI (Escherichia Coli, E), COLI (otros

coliformes distintos de <i>Escherichia coli</i> , F) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega; (NC= no crecimiento).....	129
<b>FIGURA 29.</b> Frecuencia de distribución del recuento de BAL (bacterias ácido lácticas, A); CGPCN (cocos gram positivos catalasa negativos, B); BAB (esporas butíricas, C), SCP (estafilococos coagulasa positivos, D) y SCN (estafilococos coagulasa negativos, E) y RCST (recuento de células somáticas de leche de tanque, F) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega; (NC= no crecimiento).....	132
<b>FIGURA 30.</b> Recuentos de gérmenes mesófilos (MESO), termodúricos (TERMO) y psicrotrofos (PSICRO) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de la estación del año.....	145
<b>FIGURA 31.</b> Recuentos de gérmenes de origen ambiental ( <i>Pseudomonas</i> spp. (PSEUDO), <i>Escherichia coli</i> (ECOLI), otros coliformes distintos de <i>Escherichia coli</i> (COLI), bacterias ácido lácticas (BAL) y cocos gram positivos catalasa negativos (CGPCN)) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de la estación del año.....	146
<b>FIGURA 32.</b> Recuentos de gérmenes relacionados con la sanidad mamaria (estafilococos coagulasa positivos (SCP) y negativos (SCN)), y de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de la estación del año.....	147
<b>FIGURA 33.</b> Recuentos de gérmenes termodúricos (TERMO) y esporas butíricas (BAB) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de la estación del año.....	147
<b>FIGURA 34.</b> Recuentos de los grupos microbianos (MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= <i>Pseudomonas</i> spp., ECOLI= <i>Escherichia coli</i> , COLI= coliformes distintos de <i>Escherichia coli</i> , BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram positivos catalasa negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= grupo de los estafilococos coagulasa positivos, SCN= grupo de los estafilococos coagulasa negativos) y de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de su pertenencia (o no) a AGRAMA.....	148
<b>FIGURA 35.</b> Recuentos de los grupos microbianos (MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= <i>Pseudomonas</i> spp., ECOLI= <i>Escherichia coli</i> , COLI= coliformes distintos de <i>Escherichia coli</i> , BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram positivos catalasa negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= grupo de los estafilococos coagulasa positivos, SCN= grupo de los estafilococos coagulasa negativos) y de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función del nivel de producción de leche en la ganadería (PMOA: PMOAB<133 litros/oveja/año; PMOAA>133 litros/oveja/año).....	149
<b>FIGURA 36.</b> Recuentos de los grupos microbianos (MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= <i>Pseudomonas</i> spp., ECOLI= <i>Escherichia coli</i> , COLI= coliformes	

distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram positivos catalasa negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= grupo de los estafilococos coagulasa positivos, SCN= grupo de los estafilococos coagulasa negativos) y de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de la aplicación de lotes de alimentación.....150

**FIGURA 37.** Recuentos de los grupos microbianos (MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas* spp., ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram positivos catalasa negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= grupo de los estafilococos coagulasa positivos, SCN= grupo de los estafilococos coagulasa negativos) y de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función del tipo de alimentación de las ovejas de ordeño (TaUC: unifeed comercial; TaUP: unifeed propio; TaMFC: mezcla de forraje y concentrado).....152

**FIGURA 38.** Recuentos de los grupos microbianos (MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas* spp., ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram positivos catalasa negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= grupo de los estafilococos coagulasa positivos, SCN= grupo de los estafilococos coagulasa negativos) y de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de la utilización de subproductos.....153

**FIGURA 39.** Recuentos de los grupos microbianos (MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas* spp., ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram positivos catalasa negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= grupo de los estafilococos coagulasa positivos, SCN= grupo de los estafilococos coagulasa negativos) y de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función del tipo de forraje.....154

**FIGURA 40.** Recuentos de los grupos microbianos (MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas* spp., ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram positivos catalasa negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= grupo de los estafilococos coagulasa positivos, SCN= grupo de los estafilococos coagulasa negativos) y de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de la higiene de los alojamientos de las ovejas de ordeño.....155

**FIGURA 41.** Recuentos de los grupos microbianos (MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas* spp., ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram positivos catalasa negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= grupo de los estafilococos coagulasa positivos, SCN= grupo



de los estafilococos coagulasa negativos) y de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función del tipo de línea de la sala de ordeño.....160

**FIGURA 42.** Recuentos de los grupos microbianos (MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas* spp., ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram positivos catalasa negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= grupo de los estafilococos coagulasa positivos, SCN= grupo de los estafilococos coagulasa negativos) y de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función del número de puestos de la sala de ordeño.....161

**FIGURA 43.** Recuentos de los grupos microbianos (MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas* spp., ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram positivos catalasa negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= grupo de los estafilococos coagulasa positivos, SCN= grupo de los estafilococos coagulasa negativos) y de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de la realización de corte de vacío previo a la retirada de pezoneras.....162

**FIGURA 44.** Recuentos de los grupos microbianos (MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas* spp., ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram positivos catalasa negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= grupo de los estafilococos coagulasa positivos, SCN= grupo de los estafilococos coagulasa negativos) y de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función del tipo de tanque de refrigeración de la leche....163

**FIGURA 45.** Recuentos de los grupos microbianos (MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas* spp., ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram positivos catalasa negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= grupo de los estafilococos coagulasa positivos, SCN= grupo de los estafilococos coagulasa negativos) y de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de la higiene de la sala de ordeño y la lechería....164

**FIGURA 46.** Recuentos de los grupos microbianos (MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas* spp., ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram positivos catalasa negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= grupo de los estafilococos coagulasa positivos, SCN= grupo de los estafilococos coagulasa negativos) y de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función del establecimiento de un protocolo específico de limpieza de la sala de ordeño y lechería.....165

**FIGURA 47.** Recuentos de los grupos microbianos (MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas* spp., ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= grupo de los estafilococos coagulasa positivos, SCN= grupo de los estafilococos coagulasa negativos) y de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de la periodicidad de revisión de la maquinaria de sala de ordeño y tanque de refrigeración de la leche.....**166**

**FIGURA 48.** Recuentos de los grupos microbianos (MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas* spp., ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram positivos catalasa negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= grupo de los estafilococos coagulasa positivos, SCN= grupo de los estafilococos coagulasa negativos) y de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de la aplicación de vacunación frente a mamitis (gangrenosa).....**169**

**FIGURA 49.** Recuentos de los grupos microbianos (MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, , PSEUDO= *Pseudomonas* spp., ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram positivos catalasa negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= grupo de los estafilococos coagulasa positivos, SCN= grupo de los estafilococos coagulasa negativos) y de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función del tipo de tratamiento farmacológico de secado .....**170**

**FIGURA 50.** Recuentos de los grupos microbianos microbianos (MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, , PSEUDO= *Pseudomonas* spp., ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram positivos catalasa negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= grupo de los estafilococos coagulasa positivos, SCN= grupo de los estafilococos coagulasa negativos) y de células somáticas (RCST) de leche de tanque en función de la desinfección de pezones post-ordeño.....**172**

**FIGURA 51.** Análisis de correspondencias entre recuentos microbianos inferiores (mesol= mesófilos inferior, termol= termodúricos inferior, psicrol= psicrotrofos inferior, pseudol= *Pseudomonas* spp. inferior, ecolil= *Escherichia coli* inferior, colil= otros coliformes distintos de *Escherichia coli* inferior, ball= bacterias ácido lácticas inferior, cgpcnl= cocos gram-positivos catalasa-negativos inferior, babl= bacterias ácido butíricas inferior, scpl= estafilococos coagulasa positivos inferior, scnI= estafilococos coagulasa negativos inferior, rcstI= recuento de células somáticas totales inferior) y recuentos microbianos superiores (mesoS= mesófilos superior, termoS= termodúricos superior, psicroS= psicrotrofos superior, pseudoS= *Pseudomonas* spp. superior, ecoliS= *Escherichia coli* superior, coliS=

otros coliformes distintos de <i>Escherichia coli</i> superior, balS= bacterias ácido lácticas superior, cgpcnS= cocos gram-positivos catalasa-negativos superior, babS= bacterias ácido butíricas superior, scpS= estafilococos coagulasa positivos superior, scnS= estafilococos coagulasa negativos superior, rcstS= recuento de células somáticas totales superior) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	176
--	-----

**FIGURA 52.** Análisis de correspondencias de las variables estudiadas según la producción media por oveja y año, la higiene del alojamiento, tamaño de la explotación y el tipo de manejo de la alimentación (cuadrados rojos donde TE1= tamaño de explotación pequeño, TE2 = tamaño de explotación mediano, TE3 = tamaño de explotación grande, PMOAB = producción media por oveja y año baja, PMOAB = producción media por oveja y año alta, HalojD = higiene del alojamiento deficiente, HalojB = higiene del alojamiento buena, LtS = usa lotes de alimentación, LtN= no usa lotes de alimentación, TaUC = unifeed comercial, TaUP = unifeed elaborado en la propia explotación, TaMFC= mezcla de forraje y concentrado, SubS = uso de subproductos, SubN = no uso de subproductos, FoH = forraje seco (heno), FoS = forraje húmedo (ensilado) y los recuentos microbianos (círculos azules donde mesol= mesófilos inferior, mesoS= mesófilos superior, babl= esporas butíricas inferior, babS= esporas butíricas superior, scl= estafilococos totales inferior, scS= estafilococos totales superior) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega....

**FIGURA 53.** Análisis de correspondencias según el conjunto de variables representativas del ordeño higiénico (cuadrados rojos donde LsoA = línea de la máquina de ordeño alta, LsoB = línea de la máquina de ordeño baja, Pso1 = número de puestos de la máquina de ordeño bajo ( $\leq 20$ ), Pso2= número de puestos de la máquina de ordeño intermedio (20-36), Pso3= número de puestos de la máquina de ordeño alto ( $\geq 36$ ), CvacS = aplicación de corte de vacío previo a retirada de pezoneras, CvacN = no aplicación de corte de vacío previo a retirada de pezoneras, TanqueA = tipo de tanque de ordeño abierto, TanqueC= tipo de tanque de ordeño cerrado, HsoD = higiene total de la sala de ordeño y lechería deficiente, HsoB = higiene total de la sala de ordeño y lechería buena, LimpS = aplicación de un protocolo de limpieza, LimpN = no aplicación de protocolo de limpieza, RevS = frecuencia anual en la revisión de la maquinaria, RevN= no se realiza ningún tipo de revisión de la maquinaria) y los recuentos microbianos (círculos azules donde mesol= mesófilos inferior, mesoS= mesófilos superior, babl= esporas butíricas inferior, babS= esporas butíricas superior, scl= estafilococos totales inferior, scS= estafilococos totales superior) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....

**FIGURA 54.** Análisis de correspondencias según el conjunto de variables representativas de buenas prácticas sanitarias (cuadrados rojos donde VmaS = aplicación vacuna para mamitis clínica, VmaN = no aplicación de vacuna para mamitis clínica, TsS = realiza algún tipo de secado, TsN = no realiza ningún tipo de secado, DpS = realiza la desinfección post-ordeño, DpN = no realiza la desinfección

post-ordeño) y los recuentos microbianos (círculos azules donde mesol= mesófilos inferior, mesoS= mesófilos superior, babl= esporas butíricas inferior, babS= esporas butíricas superior, scl= estafilococos totales inferior, scS= estafilococos totales superior) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	180
--	-----

## **CAPÍTULO 9: ESTUDIO DE LA CALIDAD TECNOLÓGICA DE LA LECHE Y SU RELACIÓN CON LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS, COLORIMÉTRICAS, HIGIÉNICO-SANITARIAS Y PRODUCTIVAS DE LAS GANADERÍAS DE RAZA OVINA MANCHEGA.**

<b>FIGURA 55.</b> Frecuencia de distribución de RCT (tiempo de coagulación, A); K <sub>20</sub> (velocidad de endurecimiento de la cuajada, B); A <sub>30</sub> (dureza del coágulo a los 30 minutos, C); A <sub>30</sub> – muestras que coagulan (dureza del coágulo a los 30 minutos sólo con las muestras que han coagulado, D); A <sub>60</sub> (dureza del coágulo a los 60 minutos, E); RCUA (rendimiento de la cuajada, F) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	185
--	-----

<b>FIGURA 56.</b> Análisis de correspondencias entre las categorías de tiempo de coagulación (A: cuadrados rojos donde RCTI= tiempo de coagulación inferior, RCTS= tiempo de coagulación superior) y velocidad de endurecimiento de la cuajada (B: cuadrados rojos donde K20I= velocidad de endurecimiento inferior, K20S= velocidad de endurecimiento superior) y las características físico-químicas (círculos azules donde G1= grasa baja, G2= grasa alta; Pt1= proteína total baja, Pt2= proteína total alta; Ct1= caseína total baja, Ct2= caseína total alta; La1= lactosa baja, La2= lactosa alta, pH1= pH bajo, pH2= pH alto) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	197
--	-----

<b>FIGURA 57.</b> Análisis de correspondencias entre las categorías de dureza del coágulo a los 30 minutos (A: cuadrados rojos donde A30I= dureza del coágulo a los 30 minutos inferior, A30S= dureza del coágulo a los 30 minutos superior), dureza del coágulo a los 60 minutos (B: cuadrados rojos donde A60I= dureza del coágulo a los 60 minutos inferior, A60S= dureza del coágulo a los 60 minutos superior) y rendimiento de la cuajada (C: cuadrados rojos donde RCUAI= rendimiento de la cuajada inferior, RCUAS= rendimiento de la cuajada superior) y las características físico-químicas (círculos azules donde G1= grasa baja, G2= grasa alta; Pt1= proteína total baja, Pt2= proteína total alta; Ct1= caseína total baja, Ct2= caseína total alta; La1= lactosa baja, La2= lactosa alta, pH1= pH bajo, pH2= pH alto) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	198
---	-----

<b>FIGURA 58.</b> Análisis de correspondencias entre las categorías del tiempo de coagulación, velocidad de endurecimiento de la cuajada, dureza del coágulo a los 30 minutos y dureza del coágulo a los 60 minutos (cuadrados rojos donde RCTI= tiempo de coagulación inferior, RCTS= tiempo de coagulación superior; K20I= velocidad de endurecimiento superior, K20S= velocidad de endurecimiento inferior;	
--	--

A30I= dureza del coágulo a los 30 minutos inferior, A30S= dureza del coágulo a los 30 minutos superior; A60I= dureza del coágulo a los 60 minutos inferior, A60S= dureza del coágulo a los 60 minutos superior; RCUAI= rendimiento de la cuajada inferior, RCUAS= rendimiento de la cuajada superior; PHI= pH inferior; PHS= pH superior) y los índices colorimétricos (círculos azules donde L1= baja luminosidad, L2= alta luminosidad; A1= índice de rojo bajo (verde), A2= índice de rojo alto (rojo); B1= índice de amarillo bajo (azul), B2= índice de amarillo alto (amarillo)), de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....199

**FIGURA 59.** Análisis de correspondencias entre las categorías de tiempo de coagulación (A: cuadrados rojos donde RCTI= tiempo de coagulación inferior, RCTS= tiempo de coagulación superior) y velocidad de endurecimiento (B: cuadrados rojos donde K20I= velocidad de endurecimiento inferior, k20S= velocidad de endurecimiento superior) con el pH, las características higiénico-sanitarias (círculos azules donde pH1= pH bajo, pH2= pH alto, mesol= mesófilos inferior, mesoS= mesófilos superior, babI= esporas butíricas inferior, babS= esporas butíricas superior, scl= estafilococos totales inferior, scS= estafilococos totales superior, rcsI= recuento de células somáticas inferior y rcsS= recuento de células somáticas superior), de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....201

**FIGURA 60.** Análisis de correspondencias entre las categorías de dureza del coágulo a los 30 minutos (A: cuadrados rojos donde A30I= dureza del coágulo a los 30 minutos inferior, A30S= dureza del coágulo a los 30 minutos superior), dureza del coágulo a los 60 minutos (B: cuadrados rojos donde A60I= dureza del coágulo a los 60 minutos, A60S= dureza del coágulo a los 60 minutos) y rendimiento de la cuajada (C: cuadrados rojos donde RCUAI= rendimiento de la cuajada inferior, RCUAS= rendimiento de la cuajada superior) y el pH, las características higiénico-sanitarias (círculos azules donde pH1= pH bajo, pH2= pH alto, mesol= mesófilos inferior, mesoS= mesófilos superior, babI= esporas butíricas inferior, babS= esporas butíricas superior, scl= estafilococos totales inferior, scS= estafilococos totales superior, rcsI= recuento de células somáticas inferior y rcsS= recuento de células somáticas superior), de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....203

**FIGURA 61.** Valores medios para el tiempo de coagulación (RCT) y velocidad de endurecimiento de la cuajada ( $K_{20}$ ) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega según la estación del año.....205

**FIGURA 62.** Valores medios para la dureza del coágulo a los 30 minutos ( $A_{30}$ ), dureza del coágulo a los 60 minutos ( $A_{60}$ ) y rendimiento de la cuajada (RCUA) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega según la estación del año.....208

**FIGURA 63.** Valores medios para el tiempo de coagulación (RCT) y velocidad de endurecimiento de la cuajada ( $K_{20}$ ) según el nivel de pH de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....210

<b>FIGURA 64.</b> Valores medios para la dureza del coágulo a los 30 minutos ( $A_{30}$ ), dureza del coágulo a los 60 minutos ( $A_{60}$ ) y rendimiento de la cuajada (RCUA) según el nivel de pH de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	<b>211</b>
<b>FIGURA 65.</b> Representación gráfica de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de su comportamiento en la coagulación (RCT= tiempo de coagulación, $A_{30}$ = dureza del coágulo a los 30 minutos, $A_{60}$ = dureza del coágulo a los 60 minutos).....	<b>218</b>
<b>FIGURA 66.</b> Frecuencia de distribución de G (grasa, A); Pt (proteína total, B); Es (Extracto seco, C); Ct (caseína total, D); La (lactosa, E); Pt/Es (proteína total/extracto seco, F); Ct/G (caseína total/grasa, G); U (urea, H); pH (pH, I); $L^*$ (luminosidad, J); $a^*$ (índice de rojo, K); $b^*$ (índice de amarillo, L) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	<b>222</b>
<b>FIGURA 67.</b> Frecuencia de distribución de MESO (mesófilos, A); TERMO (termodúricos, B); PSICRO (psicrotrofos, C); PSEUDO (Pseudomonas spp., D); ECOLI (Escherichia coli, E); COLI (coliformes distintos de Escherichia coli, F); BAL (bacterias ácido lácticas, G); CGPCN (cocos gram-positivos catalasa-negativos, H); BAB (esporas butíricas, I); SCP (estafilococos coagulasa positivos, J); SCN (estafilococos coagulasa negativos, K); RCST (recuento de células somáticas, L) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	<b>224</b>

## LISTA DE ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

a\*: Balance de color verde-rojo.

A<sub>30</sub>: dureza del coágulo a los 30 minutos o dureza media.

A<sub>60</sub>: dureza del coágulo a los 60 minutos o dureza máxima.

AGRAMA: Asociación Nacional de Criadores de Ganado Ovino Selecto de raza Manchega.

b\*: Balance de color azul-amarillo.

BAB: Bacterias del género *Clostridium* fermentadoras del lactato.

BAL: bacterias ácido lácticas.

cel/mL: células somáticas por mililitro.

CGPCN: cocos gram-positivos catalasa-negativos.

CNAOL: Conseil National des Appellations D'Origine Laitières.

COLI: coliformes.

Ct: caseína total.

DOP: Denominación de Origen Protegida.

ECOLI: *Escherichia coli*

Es: extracto seco.

espora/L: esporas por mililitro.

ESROM: Esquema de Selección de la Raza Ovina Manchega.

FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

FAOSTAT: Food And Agriculture Organization of the United Nations.

FEGA: Fondo Español de Garantía Agraria.

FIL: Fédération Internationale du Lait.

G: grasa.

gr: gramo.

IECLM: información del Instituto Estadístico de Castilla-La Mancha.

IGP: Indicación Geográfica Protegida.

IMI: infección intramamaria.

INLAC: interprofesional láctea.

K<sub>20</sub>: tiempo de endurecimiento de la cuajada.

Kg: kilogramo.

L\*: Luminosidad.

L: litro.

La: lactosa.

logNMP/L: logaritmo del número más probable por litro.

MAPA: Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.

MESO: gérmenes mesófilos totales.

mg/L: miligramos por litro.

mm: milímetros.

PCA: Plate Count Agar.

PMN: leucocitos polimorfonucleares neutrófilos.

PSICRO: gérmenes psicrotrofos.

Pt: proteína total.

RCS: recuento de células somáticas.

RCST: recuento de células somáticas de leche de tanque.

RCT: tiempo de coagulación.

RCUA: rendimiento de la cuajada.

SC: estafilococos.

SCN: estafilococos coagulasa negativos.

SCN-NR: estafilococos coagulasa negativos resistentes a la novobiocina.

SCN-NS: estafilococos coagulasa negativos sensibles a la novobiocina.

SCP: estafilococos coagulasa positivos.

TERMO: gérmenes termodúricos.

U: urea.

UE: Unión Europea.

ufc/g: unidades formadoras de colonia por gramo.

ufc/mL: unidades formadoras de colonia por mililitro.



# PARTE I

## INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS





## INTRODUCCIÓN

El sector ovino lechero tiene una gran relevancia en la Cuenca Mediterránea. Tradicionalmente ha sido fundamental para el sostenimiento del medio rural, siendo en la actualidad la base de una importante industria de productos lácteos de calidad.

En España, la raza ovina Manchega es la raza autóctona de ovino lechero con mayor censo. Es una raza rústica muy adaptada a las condiciones geográficas de la región natural de La Mancha, siendo su leche la materia prima del queso Manchego, la figura de calidad con Denominación de Origen Protegida (DOP) más importante de España, con un importante perfil exportador. En las últimas décadas el sector ovino manchego ha experimentado una importante evolución, habiéndose reducido considerablemente el número de ovejas y de ganaderías, siendo en la actualidad las explotaciones muy especializadas en la producción lechera y de un mayor tamaño censal. De hecho, la producción de leche de la DOP Queso Manchego prácticamente se ha duplicado en los últimos quince años hasta alcanzar los 84 millones de litros en el año 2018. Esta especialización y aumento del censo ha condicionado considerablemente el sistema de producción, en aspectos tan importantes como la alimentación, el manejo higiénico de la obtención y conservación de la leche, la sanidad mamaria, etc.

Este estudio se plantea en el marco descrito de especialización lechera y de cambios en el sistema de producción, y desde la óptica de que el objetivo final de la producción de leche de oveja es la fabricación de queso y otros productos lácteos de calidad. Así, la calidad de la leche debe considerarse desde un aspecto en el que se integren los tradicionales parámetros de calidad físico-química (grasa, proteína, extracto seco, etc.), con aspectos de calidad microbiológica diferencial que complementen a los parámetros higiénico-sanitarios utilizados actualmente (mesófilos totales a 30°C y recuento de células somáticas). Teniendo en cuenta el conjunto de aspectos físico-químicos e higiénico-sanitarios, y los factores de variación asociados a las características de producción y manejo de las ganaderías, se pretende abordar el concepto de calidad tecnológica de la leche para la elaboración de queso, con el fin de facilitar información al sector que le permita la mejora de los aspectos necesarios para asegurar la calidad de la leche de oveja Manchega.

Para ello, este trabajo plantea los siguientes objetivos:

**Objetivo general:** Evaluación de la calidad de la leche de oveja Manchega en relación con su sistema de producción.

**Objetivos particulares:**

- 1.- Revisar el estado actual del conocimiento y de la investigación sobre la calidad de la leche de oveja en el marco de la producción primaria, y la tipología del sistema de producción y de manejo de las ganaderías de oveja Manchega.
- 2.- Determinar la calidad físico-química, cromaticidad y calidad higiénico-sanitaria (microbiología diferencial y recuento de células somáticas) de la leche de tanque de las ganaderías de oveja Manchega.
- 3.- Estimar la calidad tecnológica y su relación con los parámetros físico-químicos, cromaticidad e higiénico-sanitarios de la leche de tanque de oveja Manchega.

## INTRODUCTION

The dairy sheep sector has a great importance in the Mediterranean basin. Traditionally, it has been essential in supporting the rural environment, being the base of an important dairy industry of quality at the present time.

Manchega sheep is the largest autochthonous dairy breed of Spain. It is a rustic breed well adapted to the geographical conditions of the natural region of La Mancha, being its milk the raw material for making Manchego Cheese, the most important figure of quality with Protected Designation of Origin (PDO) in Spain, linked with an important export profile. In recent decades the Manchego sheep sector has undergone a significant development, with the reduction in the number of sheep and farms, being the surviving farms highly specialized in milk production and having larger flock size these days. In fact, the milk production of PDO Manchego Cheese has almost doubled in the last fifteen years to reach 84 million liters by 2018. This specialization and increase in the census has considerably conditioned the production system, in such important aspects as feeding, hygienic management of milking, preservation of milk, mammary health, etc.

This study is raised in the described framework of milk specialization and changes in production system, and from the point of view that the ultimate purpose of sheep's milk production is cheese making and other quality dairy products. Thus, the quality of milk should be considered from an aspect in which the traditional physico-chemical quality parameters (fat, protein, total solids, etc.) are integrated, with differential microbial quality characteristics as a complement of the hygienic-sanitary aspects considered these days (total bacterial counts 30°C and somatic cell counts). Taking into account all the physico-chemical and hygienic-sanitary aspects, and the factors of variation associated with the production and management characteristics of farms, the aim is to deal with the concept of technological quality of milk intended for cheese making, in order to provide the sector with enabling information to improve the aspects to ensure the quality of Manchega sheep' milk.

For this, this doctoral thesis sets out the following aims:

**General aim:** Evaluation of the quality of Manchega sheep' milk in relation to its production system.

**Specific aims:**

1.- To review the current state of knowledge and research about the quality of sheep's milk in the framework of primary production, and the typology of the production and management system of Manchega sheep' farms.

2. - To determine the physico-chemical quality, chromaticity and hygienic-sanitary quality (differential microbiology and somatic cell counts) from bulk-tank milk of Manchega sheep' farms.
3. - To estimate the technological quality and its relationship with physico-chemical, chromaticity and hygienic-sanitary parameters from bulk-tank milk of Manchega sheep' farms.

# PARTE II

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA









# CAPÍTULO 1

## SITUACIÓN DEL OVINO LECHERO

### CONTENIDOS

1.1. Situación del ovino lechero en España .....	5
1.2. Situación del ovino lechero en Castilla-La Mancha.....	7
1.3. Aspectos socioeconómicos, productivos y de manejo del ovino lechero en Castilla-La Mancha.....	9



## SITUACIÓN DEL OVINO LECHERO.

La especie ovina tiene una gran diversidad en términos de potencial genético y racial, distribución geográfica, funcionalidad y productividad, constituyendo uno de los recursos naturales renovables más importantes (Zervas y cols., 2011). Su censo mundial alcanza los 1.202 millones de cabezas en el año 2017 (FAOSTAT, 2019), siendo el continente asiático el que concentra el 42% del total, ocupando Europa el tercer lugar con el 11% y 132 millones de cabezas. En el sector ovino lechero, destaca el incremento en los últimos 20 años de la producción de leche en el mundo, hasta alcanzar los 10 millones de toneladas. El continente asiático se sitúa como el primer productor, registrando un total de 5 millones de toneladas, seguido por la UE con 3 millones toneladas. Dentro de la UE, Grecia y Rumania, con el 26% y el 19% de la producción total respectivamente, ocupan los primeros puestos en la producción de leche, seguidas por España (18%), Italia (14%) y Francia (9%) (FAOSTAT, 2019).

En los países de la Cuenca Mediterránea el ovino lechero constituye uno de los sectores tradicionalmente más importantes. Su buena adaptación al clima y al manejo, junto al aprovechamiento de zonas de difícil explotación agrícola a través de la práctica del pastoreo, y la capacidad de transformar alimentos fibrosos en productos de calidad, han favorecido su implantación en numerosas zonas rurales, constituyendo un pilar importante de su desarrollo socio-económico, demográfico y medioambiental (Lombardi, 2005; De Rancourt y cols., 2006).

### 1.1. SITUACIÓN DEL OVINO LECHERO EN ESPAÑA.

El sector lácteo se constituye como estratégico en el ámbito agroalimentario español, tanto económica como socialmente, contribuyendo al desarrollo y fijación de la población rural, y se encuentra en el segundo puesto en importancia tras el sector porcino. Se trata de un sector en el que el 87,7% del total de leche producida es leche de vaca, el 6,3% de oveja y el 5,9 % de cabra (FEGA, 2019).

El sector ovino lechero en España ha tenido que adaptarse a los nuevos retos sociales, culturales, económicos, ambientales y políticos, manteniendo las peculiaridades propias de los productos. Asimismo, el sector ha evolucionado hacia una mejora en el potencial genético de los animales y en los sistemas productivos, en aspectos tan relevantes como la sanidad y bienestar animal, reproducción, alimentación, manejo del ordeño, etc. En el año 2018 la producción alcanzó un total de 514 toneladas de leche, un 1% menos de las registradas en 2017. Castilla y León es la Comunidad Autónoma más productora, con un 55% de la producción de leche y un 42% del censo ovino total del país; Castilla-La Mancha se sitúa en segundo lugar con un 32% de las producciones y el 37% del censo ovino total español (MAPA, 2019).

Tradicionalmente en España, la población de ovino lechero ha estado constituida por un conjunto de razas autóctonas (Manchega, Churra, Castellana y Latxa, principalmente) a las que se les ha ido

sumando una serie de razas foráneas de alta aptitud productiva (Assaf y Lacaune, principalmente). Actualmente, de las 52 razas inscritas en el catálogo oficial, 43 son autóctonas y se encuentran recogidas en el Anexo I del [Real Decreto 2129/2008, de 26 de diciembre](#), por el que se establece el Programa Nacional de Conservación, Mejora y Fomento de las Razas Ganaderas, enfocado en la conservación y utilización sostenible de los recursos genéticos de interés agroalimentario.

La explotación del ganado ovino lechero es una actividad cada vez más importante en España, debido principalmente ([MAPA, 2019](#)):

- ☁ A que la mayor parte de la producción se destina a la producción de queso.
- ☁ A la aceptación y el éxito de los estándares de calidad de los quesos de oveja, que garantizan su alto valor cualitativo y su diversidad.
- ☁ Al aumento de los rendimientos lecheros por animal, gracias a los programas de mejora genética de razas autóctonas o la introducción de razas de alta producción.
- ☁ Al gran volumen y potencial del mercado exterior de los quesos de leche de oveja, sobre todo de pasta prensada, que favorecen el desarrollo de la industria quesera.

La producción de queso de oveja en España se ha incrementado en la década 2006-2016 en un 62%, constituyéndose como el segundo país productor de la UE, con el 28% del total de la UE, por detrás de Italia. En España, en el año 2017, los quesos de leche de oveja representaron el 15,61%. La producción de queso puro de oveja es de 75.100 toneladas, siendo Castilla y León y Castilla-La Mancha las regiones productoras más importantes.

Atendiendo al consumo de queso en los hogares españoles (miles de Kg), el queso de oveja representa el 5,5%, porcentaje bajo respecto a los quesos frescos y semicurados (27,60% y 23,20%, respectivamente), que ocupan los primeros puestos en el consumo de queso. No obstante, hay que mencionar que los resultados del primer trimestre del año 2018 apuntan a un incremento del 3,4% en el consumo de queso de oveja respecto a los tres primeros meses de 2017, pasando de las 4.614 a las 4.772 toneladas, registrando los mayores consumos de quesos de oveja en hogares de la década y un incremento global del 9% respecto a 2016.

En España se elabora un número considerable de quesos tradicionales de oveja. Muchos de ellos se producen de forma artesana, siendo comercializados y consumidos en áreas muy limitadas; otros son elaborados bajo figuras de calidad garantizadas, contabilizándose siete tipos de quesos con Denominación de Origen Protegida con proyección internacional: Queso Manchego, Zamorano, Roncal, Idiazábal, Queso de La Serena, Torta del Casar y Queso Flor de Guía. A efectos del [Reglamento \(UE\) nº 1151/2012 del Parlamento Europeo y el Consejo de 21 de noviembre de 2012](#), sobre los regímenes de calidad de los productos agrícolas y alimenticios, una “Denominación de Origen” identifica un producto:

- a) Originario de un lugar determinado, una región o, excepcionalmente, un país;

- b) Cuya calidad o características se asocian fundamentalmente a un medio geográfico particular, con los factores naturales y humanos inherentes a él, y
- c) Cuyas fases de producción tengan lugar en la zona geográfica definida.

En conjunto, las figuras de calidad diferenciada de queso en España comercializaron en 2016 en torno a 26.000 toneladas de quesos, de las que más de la mitad corresponde a la DOP Queso Manchego. El valor económico generado por estas producciones de calidad diferenciada ronda los 260 millones de euros, entre las ventas al mercado nacional y a los países de la UE y a países terceros. En el mercado comunitario se comercializan cerca de 4.000 toneladas de quesos con figura de calidad diferenciada, representando la DOP Queso Manchego el 90% de las ventas (DOP Queso Manchego, 2019 – Comunicación personal).

## **1.2. SITUACIÓN DEL OVINO LECHERO EN CASTILLA-LA MANCHA.**

Castilla-La Mancha registra un censo de 908.764 ovejas de producción lechera. El mayor número de animales se encuentra en la provincia de Ciudad Real, que representa el 42,40% del censo total, seguida por Albacete (20,77%), Toledo (19,58%) y Cuenca con el 15,85%, situándose en último lugar en importancia Guadalajara con el 1,40% de la población (MAPA, 2019).

La raza ovina Manchega, raza autóctona de mayor censo en España, es la que tiene tradicionalmente una mayor implantación en Castilla-La Mancha, aunque en la actualidad también se explotan otras razas foráneas (Lacaune y Assaf, principalmente) que se llevan introduciendo en esta comunidad desde hace unas décadas (MAPA, 2019).

La raza Manchega se caracteriza por su doble aptitud leche-carne, aunque en los últimos años la tendencia es a la especialización en producción de leche. Se trata de una raza en la que se distinguen la variedad blanca, como raza de fomento, y la variedad negra, calificada como raza en peligro de extinción (Real Decreto 2129/2008). Presenta una morfología perfectamente definida en el estándar racial, siendo un animal con perfil convexo, proporciones alargadas y tamaño medio-grande. Se caracteriza por adaptarse perfectamente a climas secos y calurosos, buena capacidad de pastoreo y aprovechamiento de los residuos de cosechas (rastros, principalmente), subproductos agrícolas, pastos y demás recursos naturales característicos de la región natural de La Mancha.

La producción del ovino Manchego es importante para Castilla-La Mancha y goza de figuras de calidad diferenciadas reconocidas: la Denominación de Origen Protegida Queso Manchego y la Indicación Geográfica Protegida Cordero Manchego. La transcendencia de esta producción dio lugar a que, en el año 2008, se constituyera el denominado Consorcio Manchego, con el objetivo de potenciar la producción y comercialización de productos de calidad diferenciada, así como la mejora de la raza Manchega. Se trata de una entidad integrada por la Fundación Consejo Regulador de la DOP Queso Manchego, la IGP Cordero Manchego y la Asociación Nacional de Criadores de Ganado Ovino Selecto de raza Manchega (AGRAMA) (Figura 1).

La Denominación de Origen Protegida (DOP) Queso Manchego es una figura de calidad amparada por el [Reglamento \(UE\) 1151/2012](#). La Fundación Consejo Regulador de la Denominación de Origen Queso Manchego, es el organismo responsable de certificar el Queso Manchego y se encarga de asegurar el cumplimiento de lo establecido en el Pliego de Condiciones de la Denominación de Origen Protegida ([Orden APA/3273/2007](#) y [Reglamento de Ejecución \(UE\) 129/2012](#)).

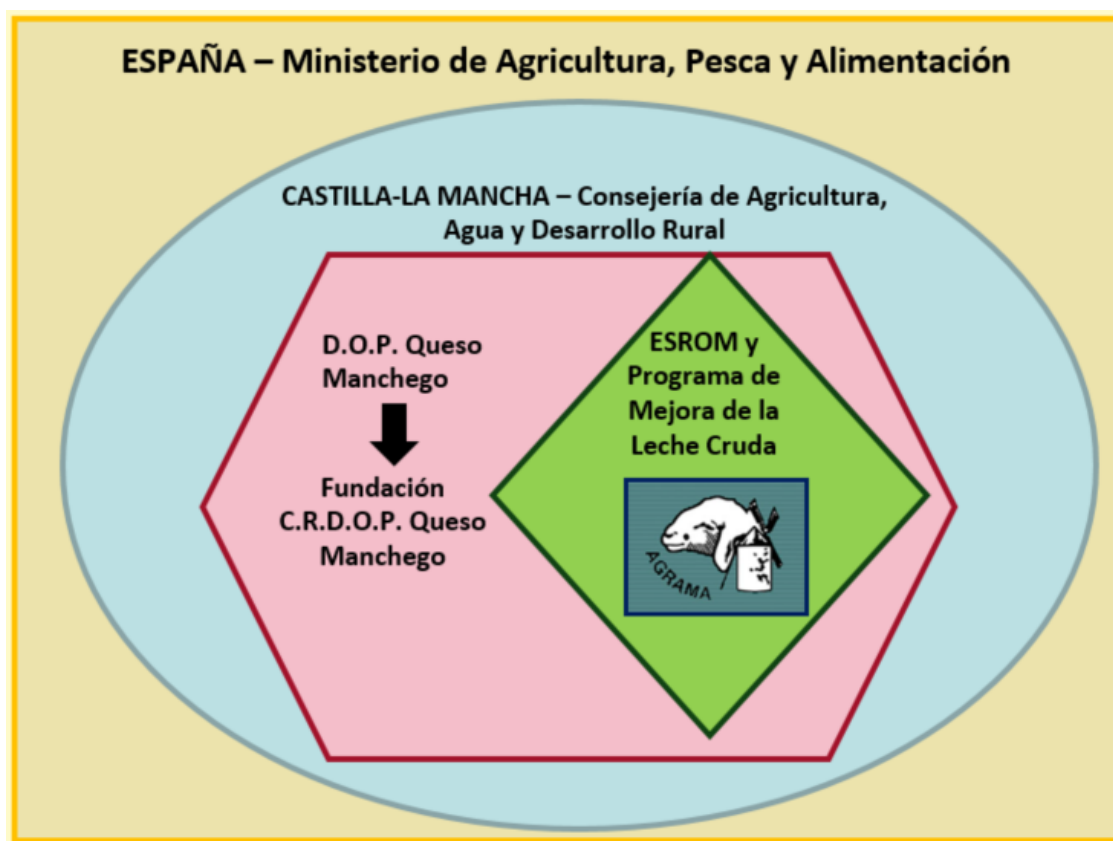


Figura 1. Esquema de organización del sector ovino manchego (Arias, 2013).

El queso Manchego es un queso de pasta prensada elaborado exclusivamente con leche de raza Manchega, con una maduración mínima de 30 o 60 días y máxima de 2 años, en función de los distintos formatos que se fabriquen. La leche con la que se elabore este queso debe de estar exenta de productos medicamentosos y cumplir con las características determinadas en el Pliego de Condiciones ([Resolución de 27 de enero de 2011](#)):

- ☞ Físico-Químicas: 6,5% mínimo de materia grasa, 4,5% mínimo de proteínas, 11% mínimo de extracto seco útil, 6,5-7 de pH y punto crioscópico  $\leq -0,550$  °C
- ☞ Microbiológicas: *Escherichia coli*  $\beta$ -Glucuronidasa+ máximo 1.000 ufc/g, estafilococos coagulasa positivos máximo 100 ufc/g, y ausencia en 25 gramos de *Salmonella spp.* y de *Listeria monocytogenes*. Así, los niveles microbiológicos contemplados en este Pliego de Condiciones son en algunos casos más restrictivos que los indicados en el [Reglamento CE nº 2073/2005](#), relativo a criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios.

👤 Organolépticas: valoración organoléptica mediante el panel de cata.

La producción de leche de las ganaderías amparadas en esta DOP ha experimentado un considerable aumento (40%) en la última década, lo que ha dado lugar a un incremento en la producción de queso del 36%, todo ello en un contexto donde se ha reducido el número de explotaciones inscritas y las que continúan han aumentado el número de ovejas. Así, en el año 2010 el número de ganaderías inscritas era 912, con un total de 554.534 ovejas que registraron unas producciones de leche de 50.746.028 litros, con los que se elaboraron 10.297.117 kilos de Queso Manchego. La DOP Queso Manchego cuenta con 756 explotaciones inscritas, con un total de 556.145 ovejas, y una producción de 84.645.161 litros de leche, con las que se han elaborado 16.192.063 kilos de Queso Manchego. De esta producción, 9.233.202 kilos, el 60,86% se destina a la exportación, en particular a Estados Unidos, así como a otros países del ámbito comunitario como Reino Unido, Alemania, Francia y Suiza (DOP Queso Manchego, 2019 – Comunicación personal).

Por su parte, la Asociación Nacional de Criadores de Ganado Ovino Selecto de raza Manchega (AGRAMA) se crea en 1964 con el objetivo de gestionar el Libro Genealógico de la raza Manchega. En 1987 se implanta el Esquema de Selección de la Raza Ovina Manchega (ESROM), siendo el objetivo de su Programa de Cría el aumento de la producción de leche. Las principales herramientas para el logro de este objetivo son el Control Lechero Oficial (Real Decreto 368/2005), la inseminación artificial y el control de filiaciones. Actualmente la asociación cuenta con 148 ganaderías inscritas, con un total de 144.342 ovejas, lo que representa el 26% del total del censo de la Denominación de Origen Queso Manchego (ESROM, 2018). Asimismo, AGRAMA tiene establecido un sistema de aseguramiento para la mejora integral de la calidad de la leche cruda que se produce y se recoge en las explotaciones, al amparo de las condiciones establecidas en el Real Decreto 1589/2009.

### **1.3. ASPECTOS SOCIOECONÓMICOS, PRODUCTIVOS Y DE MANEJO DEL OVINO LECHERO EN CASTILLA-LA MANCHA.**

El sector ovino lechero en España ha experimentado una considerable transformación en las últimas décadas. Destaca una mayor especialización productiva de las explotaciones, con importantes avances en la mejora genética y reproductiva, la racionalización de la alimentación, etc. Estas mejoras han estado, a su vez, condicionadas por modificaciones de la política agraria comunitaria y la reducción de la población dedicada a la actividad; con una disminución del número de explotaciones, un aumento de su tamaño censal y de la productividad individual. La ganadería ovina lechera es una actividad económica tradicional de gran importancia en Castilla-La Mancha, reforzada por la existencia de numerosas queserías artesanales e industriales (IECLM, 2019). Esta actividad se ha definido tradicionalmente como un sistema mixto cereal-ovino, de explotaciones familiares extensivas bajo la complementariedad de una agricultura de secano y la producción ovina, considerando tres subsistemas: 1) explotaciones sin tierra; 2) ganaderías con escasa superficie

agrícola que limita el número de animales; y 3) grandes extensiones de superficie agrícola con bajo número de animales (Caballero, 2001; Toro-Mujica y cols., 2015; Rivas y cols., 2015; Rivas y cols., 2019a). Sin embargo, esta situación ha ido evolucionando y en la actualidad se ha caracterizado un nuevo perfil de las explotaciones de ovino manchego. Rivas (2014) identifica las tipologías de explotación asociadas a la DOP Queso Manchego y la adopción de las diversas tecnologías en ellas. Así, se considera que la producción de ovino Manchego responde a un sistema mixto (agricultura-ganadería) y producción múltiple (leche, cordero y queso), con un carácter familiar y predominantemente pastoril, de bajos insumos externos y que genera de modo directo varios puestos de trabajo. La comercialización se realiza tanto por canales cortos como largos y el precio de los insumos y de los productos se considera el primer problema a considerar. Las explotaciones difieren de acuerdo a la dimensión y el uso de las tecnologías, encontrándose desde explotaciones pequeñas extensivas hasta las grandes intensivas. Poseen además una serie de ventajas competitivas, como son la diversificación del riesgo, la utilización de razas e insumos locales, moderada elasticidad entre las actividades, bajo nivel de inversión y la producción final de un producto identificado a nivel mundial por su calidad. Esto último además contribuye a la preservación de los ecosistemas y al desarrollo sostenible de la zona. Hay que destacar también el asociacionismo de las explotaciones de ovino lechero, que trae consigo una serie de ventajas directas a los productores, como es la de beneficiarse de programas de apoyo a la mejora genética y la calidad higiénico-sanitaria de la leche. Así, en el estudio de Rivas (2014) se identifican tres grupos diferenciados de explotaciones: pequeñas explotaciones familiares, grandes explotaciones extensivas y explotaciones mixtas tecnificadas. Las explotaciones pequeñas familiares viven exclusivamente de la actividad ovina y presentan alta dependencia de la alimentación externa, siendo más vulnerables a cambios en el precio de insumos y leche. Las grandes explotaciones extensivas poseen una baja especialización, aunque su dimensión y el aprovechamiento de recursos les permiten garantizar su viabilidad. Por último, las explotaciones mixtas tecnificadas, que consideran esta actividad viable empresarialmente y de gran interés para la generación de puestos de trabajo

Entre las conclusiones que se recogen en Rivas (2014) se encuentra la necesidad de mejora generalizada, a través del enfoque sistémico de los insumos productivos, orientados a un uso racional de la tierra y una adecuada adopción de la tecnología, organización del trabajo y aplicación de buenas prácticas ganaderas. Las explotaciones destacan por tener un escaso nivel de adopción de tecnologías y para su desarrollo es necesario incidir sobre todo en lo referente a la dimensión, el régimen de tenencia de la tierra y el nivel de educación del productor. En Rivas y cols. (2015) se considera necesario un desarrollo de tecnologías en el campo de la alimentación, la bioseguridad y calidad de la leche, y el manejo de una forma sinérgica dentro del contexto del sistema mixto cereal-ovino.



# CAPÍTULO 2

## CALIDAD DE LA LECHE. PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS Y FACTORES DE VARIACIÓN.

### CONTENIDOS

<b>2.1. Características físico-químicas</b>	<b>12</b>
2.1.1. Grasa	12
2.1.2. Materias nitrogenadas	14
2.1.3. Carbohidratos	16
2.1.4. Componentes minoritarios de la leche	17
2.1.5. pH de la leche	17
2.1.6. Principales factores que influyen en la variación de las características físico-químicas de la leche	17
<b>2.2. Características colorimétricas</b>	<b>22</b>
2.2.1. Principales factores que influyen en la variación de las características colorimétricas de la leche	22
<b>2.3. Características higiénico-sanitarias de la leche cruda</b>	<b>24</b>
2.3.1. Características microbiológicas	25
2.3.1.1. Recuento de gérmenes totales	27
a) Gérmenes mesófilos totales (MESO)	27
b) Gérmenes termodúricos (TERMO)	28
c) Gérmenes psicrotrofos (PSICRO)	29
2.3.1.2. Recuento de grupos microbianos específicos	31
a) Bacterias ácido lácticas (BAL)	31
b) Cocos gram-positivos catalasa-negativos (GPCNC)	33
c) Estafilococos (SC)	34
d) Coliformes (COLIT)	37
e) Otros gram-Negativos	39
f) Esporas butíricas (BAB)	40
2.3.2. Recuento de células somáticas (RCS)	41
<b>2.4. Características de coagulación de la leche</b>	<b>46</b>
2.4.1. Evaluación de las características tecnológicas de la leche	48
2.4.2. Principales factores que influyen en la variación de las características tecnológicas de la leche	52



## CALIDAD DE LA LECHE. PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS Y FACTORES DE VARIACIÓN.

El concepto de calidad es definido por la Real Academia Española de la Lengua como toda propiedad o conjunto de propiedades inherentes a algo que permiten juzgar su valor.

La calidad de la leche ha ido evolucionando en los últimos años desde la orientación clásica de “inocuidad”, que posteriormente se sustituye por “seguridad alimentaria” al concepto actual de “alimento funcional y saludable” que además, se relaciona con valores de “responsabilidad social”. Hasta los años 90, la calidad estaba ligada principalmente a los parámetros físico-químicos clásicos (grasa y extracto seco). A partir de entonces, empiezan a tenerse en cuenta y a evaluarse los parámetros higiénico-sanitarios (recuento de gérmenes aerobios totales y recuento de células somáticas), gracias al desarrollo de los analizadores automáticos. En una edición actual de la Enciclopedia de la Leche, Kelly y cols. (2011) sostienen que la calidad de la leche se evalúa a partir de un conjunto de parámetros que indican tanto su idoneidad para el consumo o procesamiento posterior en otros productos, como del estado sanitario del animal o del método de producción de la leche en el origen. Según Leitner y cols. (2016), el término “calidad de leche” se integra al de “seguridad de la leche”, haciendo sinónimos en muchas ocasiones dichos conceptos. En última instancia, son los propios los consumidores quienes definen dicho concepto, basándose en los siguientes principios (Gonzalo, 2013):

### Seguridad Alimentaria:

Es el eje en torno al cual gira toda la cadena de producción de cualquier alimento y que supone un importante salto cualitativo y de enfoque con relación a la política alimentaria del pasado siglo. Las crisis alimentarias han supuesto un incremento en la conciencia pública de los consumidores sobre peligros asociados a los procesos de producción y transformación de los alimentos y sobre la necesidad de medidas para su prevención. En este contexto, la UE llevó a cabo un reordenamiento legislativo (Reglamento (CE) nº 178/2002; Reglamento (CE) nº 852/2004; Reglamento (CE) nº 853/2004; Reglamento (CE) nº 854/2004) situando a la seguridad alimentaria como prioritaria.

### Calidad higiénica y tecnológica:

Se trata de la calidad que condiciona la vida útil, las aptitudes tecnológicas y el resultado final del proceso de producción y transformación de la leche.

### Calidad nutricional:

Incluye todos los aspectos relativos a los alimentos funcionales y propiedades nutricionales de la leche y derivados lácteos, con un elevado número de principios bioactivos y promotores de la salud (ácido linoleico conjugado, vitaminas, calcio, ácidos grasos de cadena media, probióticos, etc.).

**Calidad ética:**

Se refiere al respeto de la producción animal, al medio ambiente y a las normas de protección y bienestar animal, pero también a una correcta relación y deontología profesional entre los agentes de la cadena alimentaria, basada en unas buenas prácticas comerciales que evite abusos de los eslabones dominantes de la cadena.

Autores como [Boyazoglu y Morand-Fehr \(2001\)](#), incluyen también el concepto de calidad sensorial, definida como aquella que es detectable por los órganos de los sentidos (color, olor, sabor o consistencia), y que a su vez depende de multitud de factores, entre los que destacan la alimentación o aspectos relacionados con la calidad higiénico-sanitaria.

A continuación, se realiza una descripción detallada de las principales características de la leche que determinan su calidad, así como los principales factores que influyen en su variación.

**2.1. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS.**

La leche es una mezcla homogénea de sustancias que se encuentran en emulsión (grasa y sustancias asociadas), en suspensión (proteínas solubles, así como proteínas y minerales unidos a las micelas de caseína) y en disolución verdadera en el agua (lactosa, vitaminas hidrosolubles, sales, etc.) ([Pulina y cols., 2005](#)). Hay que tener en cuenta que las características físico-químicas de la leche varían por muchos factores, entre los que se encuentra la especie animal, la raza, el estado de lactación, la alimentación, etc.

Desde el punto de vista físico, la leche de oveja se caracteriza por tener un color blanco nacarado, y poseer mayor densidad, viscosidad, índice de refracción, acidez total y un menor punto de congelación que la leche de vaca o cabra ([Assenat, 1991](#); [Haenlein y Wendorff, 2006](#)). Químicamente, los componentes mayoritarios de la leche, además de agua, son grasa, proteína y lactosa, y en menor medida, sales orgánicas e inorgánicas, iones y vitaminas. Si tenemos en cuenta la especie, la leche de oveja posee mayor contenido porcentual en grasa y sólidos no grasos que la leche de cabra, vaca o incluso, la leche humana ([Park y cols., 2007](#)), produciendo una cuajada mucho más dura que el resto de las leches consideradas. En la **Tabla 1** se recoge la composición media de los componentes principales de la leche de oveja, cabra y vaca.

**2.1.1. GRASA.**

Destaca entre los componentes más importantes, tanto cuantitativa como cualitativamente, debido a las características físicas y organolépticas que le confiere a la leche de oveja, así como al incremento en el valor económico y nutricional del producto elaborado a partir de ella.

Tabla 1. Composición media de la leche oveja, cabra y vaca (Park y cols., 2007).

COMPOSICIÓN	OVEJA	CABRA	VACA
Densidad (g/mL)	1,03-1,04	1,01-1,04	1,02-1,05
Grasa (%)	7,90	3,80	3,60
Proteína (%)	6,20	3,40	3,20
Lactosa (%)	4,90	4,10	4,70
Sólidos no grasos (%)	12,00	8,90	9,00
Caseína (%)	4,20	2,40	2,60
Albúmina, Globulina (%)	1,00	0,60	0,60
NNP <sup>1</sup> (%)	0,80	0,40	0,20
Cenizas (%)	0,90	0,80	0,70
pH	6,51-6,85	6,50-6,80	6,65-6,71

<sup>1</sup>Nitrógeno no proteico.

La composición global de la materia grasa en rumiantes (oveja, cabra y vaca) es muy similar, aunque existen diferencias inter e intraespecie (Bauman y cols., 2006). En general, son los triglicéridos (TAG) los que constituyen cerca del 98% del total de los lípidos de la leche, incluyendo además gran cantidad de ácidos grasos esterificados. El resto son lípidos simples (diacilgliceroles, monoacilgliceroles y ésteres de colesterol), lípidos complejos (fosfolípidos) y sustancias liposolubles (esteroides, ésteres de colesterol e hidrocarburos) (Park, 2006; Haenlein y Wendorff, 2006). La leche de oveja está formada por un alto contenido en ácidos grasos saturados, en especial el palmítico, esteárico y mirístico, además de ácido oleico y linolénico (De La Fuente y cols., 2009), siendo los dos últimos importantes por sus posibles actividades anticancerígenas y antiaterogénicas (Bauman y cols., 2006; Soyeurt y Gengler, 2008). Destacan otros ácidos grasos de cadena corta y media, el caproico, caprílico, caprico y láurico, que se encuentran en mayor proporción en leche de oveja y cabra que en la de vaca, y que son importantes en el proceso de fabricación del queso, ya que les confieren características organolépticas diferenciales (Goudjil y cols., 2004), aunque algunos autores destacan sus efectos adversos sobre los niveles de colesterol en plasma (Chi y cols., 2004). Además, la diferente proporción en la que aparece cada uno de estos ácidos grasos en la leche de los rumiantes ha permitido la detección de leches de diferentes especies en quesos (Park y cols., 2007). También contiene en menor proporción ácidos grasos insaturados (ácido linoleico conjugado o el ácido *trans*vacénico, principalmente), sobre los que diversos estudios han mostrado sus efectos beneficiosos en la salud humana (Goudjil y cols., 2004).

La grasa en la leche es secretada en forma de glóbulos grasos, similares en estructura y composición en los diferentes rumiantes. La diferencia entre las distintas especies de rumiantes se halla en el tamaño de los glóbulos grasos, siendo los de ovino de un tamaño intermedio (3,5  $\mu$ m) entre los de mayor tamaño de vacuno, y los de menor tamaño de caprino (Martemucci y D'Alessandro, 2013; Silanikove y cols., 2016).

### 2.1.2. MATERIAS NITROGENADAS.

Dentro de las materias nitrogenadas de la leche la fracción más importante está constituida por el nitrógeno proteico, que representa el 95% del total de las materias nitrogenadas, siendo el 5% restante nitrógeno no proteico.

En cuanto a la fracción proteica, se pueden distinguir a su vez dos grupos: las caseínas y las proteínas séricas. Las caseínas constituyen el 76-83% de las proteínas totales de la leche (Park y cols., 2007) y juegan un papel importante en la coagulación de la leche, ya que son responsables de la estructura primaria de la cuajada (Recio y cols., 2009). Las caseínas son fosfoproteínas, sintetizadas en la glándula mamaria como respuesta, entre otras, a la acción de hormonas lactogénicas, siendo secretadas en forma de grandes agregados coloidales denominados micelas. Las caseínas  $\alpha$ s y  $\beta$  se han denominado “sensibles del calcio”, debido a que poseen grupos fosfato y precipitan en presencia de iones  $\text{Ca}^{2+}$  a pH 7,0. Por otro lado, la  $\kappa$ -caseína no es sensible al calcio, y posee la función de estabilizar la precipitación de las caseínas sensibles. La proporción en la que aparece cada tipología de caseínas es diferente en ganado ovino y caprino frente al ganado vacuno, sobre todo en lo referente a la tipología de las  $\alpha$ s-caseínas. Existen muchas diferencias a nivel individual y entre rebaños dentro de la misma especie, debido a su gran polimorfismo genético. En la leche de oveja, la  $\beta$ -caseína es la caseína mayoritaria y concentra en torno al 61,60% del total de las caseínas, representada por dos variantes principales ( $\beta$ 1-caseína y  $\beta$ 2-caseína), y tiene un papel esencial en la formación de la cuajada durante la coagulación láctea. El siguiente grupo en proporción lo constituyen las  $\alpha$ s-caseínas, formadas a su vez por las  $\alpha$ s1-caseínas (que representan el 22,84% del total de caseínas) y las  $\alpha$ s2-caseínas (que representan el 6,66% del total). El menor contenido proporcional de este tipo de caseínas respecto a la leche de vacuno hace que los quesos de oveja tengan un sabor menos amargo que los de vaca (Assenat, 1991). De cada una de las tipologías para este tipo de caseínas se han determinado variantes: para  $\alpha$ s1-caseínas 8 variantes (A-I) y para  $\alpha$ s2-caseínas 7 variantes (A-G) (Selvaggi y cols., 2014). La concentración de caseína total de la leche varía entre razas y entre individuos dentro de la misma raza, afectando a rasgos productivos de la leche y a múltiples factores en el proceso de elaboración quesera (Alais, 1985; Casado y García, 1985; Coulon, 1998; Selvaggi y Tufarelli, 2012).

Por otro lado, las proteínas séricas constituyen un grupo de proteínas que son solubles en el suero de la leche después de producirse la precipitación ácida de las caseínas a pH 4,6 y 20 °C, o a través de la precipitación por adición de cuajo (Farrell y cols., 2004). Las más representativas son la  $\beta$ -lactoglobulina,  $\alpha$ -lactoalbúmina y un conjunto de componentes minoritarios, que representan el 46,70%, 13,50% y 39,80% de las proteínas séricas, respectivamente. Cabe citar aquí los estudios de Garzón (1996) sobre las características de este tipo de proteínas en oveja de raza Manchega, señalando la importancia que tienen determinados fenotipos o variantes genéticas ( $\beta$ -Lg,

principalmente) sobre la aptitud tecnológica de la leche frente a la coagulación por el cuajo. Asimismo, el valor nutritivo de estas proteínas es incluso superior que el de las caseínas, debido a su peculiar composición en aminoácidos, que representa una importante fuente de proteínas digestibles. Además, el 75% de ellas son albúminas, consideradas como un recurso importante de péptidos bioactivos con funciones biológicas destacadas (antihipertensivas, antimicrobianas, antioxidantes, etc.). Otros componentes minoritarios de la leche son muy importantes en la transmisión de la inmunidad pasiva (immunoglobulinas, lactoferrina, transferrina, ferritina, lactoperoxidasa, lisozima, etc.), así como otros componentes procedentes de la degradación de las caseínas por acción de la plasmina, que dan lugar a características peculiares de la leche y productos lácteos. La relación entre el contenido en caseínas y proteínas séricas condiciona directamente la calidad tecnológica de la leche. Así, un incremento de proteínas séricas debido a la presencia de calostro, infecciones intramamarias, etc., haría aumentar el contenido de las proteínas totales de la leche, pero no del contenido en caseínas, que son las responsables de la coagulación de la leche [Park y cols., \(2007\)](#).

Diversos estudios señalan la importancia de determinar la relación entre el contenido de caseína total y otros parámetros físico-químicos de la leche, ya que permite prever la calidad y rendimientos queseros. Por un lado, estaría la relación caseína total/grasa, importante para estimar en conjunto las características de los dos parámetros más determinantes en la elaboración de productos lácteos y que está directamente relacionada con el extracto seco del queso producido; así, se ha determinado para la raza Lacaune (0,59) y otras razas italianas (0,63). Otra relación importante es la de caseína total/proteína total, que daría información sobre la cantidad de caseína intacta presente en la leche y que daría lugar a una buena estructura del gel durante la formación de la cuajada y que se ha determinado para la raza Lacaune (0,78) y otras razas italianas (0,79) ([Wendorff, 2002, 2017](#)).

Además, la fracción nitrogenada de la leche contiene compuestos no proteicos. El compuesto mayoritario es la urea (que representa el 30-35% del total), seguido por aminoácidos libres (15%), creatinina y ácido úrico (15%), aminoácidos (15%) y amoníaco (10-30%) ([Biswajit y cols., 2011](#)). La urea es una molécula orgánica que se obtiene de la descomposición, y posterior digestión bacteriana, de las proteínas del alimento en el rumen. Las proteínas digestibles de los alimentos se descomponen en el rumen, produciendo amoníaco, y más tarde la actividad de su microflora da lugar a la síntesis de proteínas microbianas ([Salcedo y cols., 2015](#)). El amoníaco que no se utiliza en este proceso se transforma en urea con el objetivo de restablecer el equilibrio nitrogenado del metabolismo. La concentración normal de urea en vacuno lechero se sitúa entre 100 y 300 mg/mL ([Marenjak y cols., 2004](#)), siendo superiores los valores en ganado ovino lechero, en un rango entre 340 y 500 mg/mL ([Sallato y cols., 2013](#)). La determinación del contenido en urea en leche se ha estudiado principalmente en vacuno lechero y tiene gran interés ya que se considera un buen indicador del equilibrio de la ración, al estar relacionada con el metabolismo de las proteínas en el rumen, siendo

por tanto esencial para evaluar la utilización de los diferentes nutrientes en el alimento de los animales (especialmente, energía y proteína). Además, tiene importancia desde el punto de vista reproductivo, ya que un exceso de nitrógeno ureico en sangre puede afectar a la fertilidad del animal; y también desde un punto de vista ambiental, pues una excesiva excreción de nitrógeno por los animales puede suponer un riesgo de contaminación por lixiviado de las aguas (Vázquez-Yáñez y cols., 2006). En ovino también se ha relacionado la urea en leche con la concentración proteica de la ración, siendo un indicador importante de la utilización de nitrógeno (Caja y Bocquier, 2000), y del balance energético-proteico en el animal (Matutinović y cols., 2014). Algunos estudios en Francia, como el de Sallato y cols. (2013), señalan distintos rangos de urea de la leche que permiten interpretar esta determinación. Así unos valores entre 500 y 580 mg/L podrían provocar una intoxicación amoniacal crónica susceptible de producir alteraciones metabólicas; mientras que unos valores por debajo de los 250 mg/L evidenciarían un desequilibrio y deficiencias del componente nitrogenado, acompañándose con una disminución de la producción de leche y problemas de acidosis, si la energía aportada es muy fermentable; sin embargo, estos autores no han señalado una relación negativa entre el contenido en urea y la fertilidad en ganado ovino.

### 2.1.3. CARBOHIDRATOS.

En lo referente al contenido en carbohidratos, la lactosa representa prácticamente la totalidad de los glúcidos de la leche de oveja y es el tercer componente cuantitativamente más importante, constituyendo del 22 al 27% del extracto seco total en leche de oveja (Assenat, 1991; Ramos y Juárez, 2003).

La lactosa es un valioso nutriente ya que favorece la absorción intestinal del calcio, magnesio y fósforo, y la utilización de la vitamina D (Campbell y Marhall, 1975). Además, tiene una función importante en la regulación del volumen de leche, ya que contribuye al mantenimiento del equilibrio osmótico que se establece entre el torrente sanguíneo y las células alveolares de la ubre (Chandan y cols., 2009). En la elaboración de queso, la lactosa es el sustrato que las bacterias necesitan para que se desarrollen las fermentaciones láctica, propiónica, alcohólica y butírica, en las que se obtiene ácido láctico, anhídrido carbónico, alcohol, ácido propiónico, ácido butírico y demás compuestos, que proporcionarán al queso sabores y aromas particulares.

Otros carbohidratos, tales como glicopéptidos, glicoproteínas y oligosacáridos, pueden encontrarse en leche de oveja. Los oligosacáridos son importantes porque promueven el crecimiento de bifidobacterias en el recién nacido y juegan un papel como protectores de las células de la mucosa intestinal frente a los patógenos (Ramos y Juárez, 2003).



#### 2.1.4. COMPONENTES MINORITARIOS DE LA LECHE.

La leche también contiene una serie de componentes minoritarios, como minerales, vitaminas, péptidos bioactivos, etc. Entre los minerales, el calcio y el fósforo son los que en mayor proporción se encuentran en ovino, si se comparan con la leche de cabra o vaca (Raynal-Ljutovac y cols., 2008). Estos minerales participan activamente en la formación del gel durante la coagulación de la leche y tienen una influencia directa, junto con el pH, sobre la estructura y la textura de los quesos (Lucey y cols., 2003).

En cuanto a las vitaminas, cabe destacar los mayores contenidos de vitaminas liposolubles (A, D, E y K) e hidrosolubles (B y C) (Park y cols., 2007).

Por último, los péptidos bioactivos son sustancias derivadas de las proteínas de la leche que, tras su rotura por la acción de enzimas digestivas, se encuentran libres. Se han usado como ingredientes potenciales en alimentos funcionales, por sus propiedades antimicrobianas, moduladores de la respuesta inmune, antioxidantes, efecto inhibitorio de enzimas, antitrombóticos, etc., constituyendo un campo de estudio muy interesante tanto desde el ámbito científico como de desarrollo industrial (Mohanty y cols., 2016).

#### 2.1.5. pH DE LA LECHE.

El pH es una medida de la acidez o alcalinidad de una solución y proporciona información sobre el estado higiénico de la leche. Los valores normales de pH de las distintas especies se muestran en la Tabla 1. La principal modificación de los niveles de pH se produce por acción de las bacterias lácticas, que transforman la lactosa en ácido láctico, disminuyendo el pH (Escobar, 2016). También una alta contaminación microbiológica, ocasionada por diversos motivos (ordeños poco higiénicos, limpieza inadecuada, o una refrigeración de la leche inadecuada), o la presencia de calostros puede dar lugar a un descenso de pH (Romero y cols., 2013). Por el contrario, valores de pH superiores a 7,0 indican que la leche presenta compuestos con características alcalinas, propios de leches mamáticas, con un incremento del recuento de células somáticas, adulteración con agua o presencia de productos de limpieza (Haenlein y Wendorff, 2006).

#### 2.1.6. PRINCIPALES FACTORES QUE INFLUYEN EN LA VARIACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE LA LECHE.

La composición de la leche de oveja se ve afectada por diferentes factores que pueden ser intrínsecos, aquellos ligados al propio animal, o extrínsecos. Los principales factores intrínsecos son la raza, la edad y el estado de lactación, y los factores extrínsecos son aquellos relacionados con el manejo de la ganadería, como la alimentación o el ordeño, así como los relacionados con el ambiente (temperatura, humedad, etc.) (Molina y cols., 1994; Hassan, 1995; Sevi y cols., 2004; Morand-Fehr y cols., 2007).

Asimismo, hay que tener en cuenta la relación existente entre la cantidad de leche producida y la composición, ya que se han descrito correlaciones fenotípicas y genéticas negativas entre estos parámetros (Emery, 1988); cuando aumenta la producción de leche, con una mayor cantidad de lactosa secretada, se produce una disminución en la síntesis de grasa y proteína. Este fenómeno ha sido descrito por el siguiente modelo:  $Y = ax^b$ , siendo “Y” la producción de grasa o proteína (g/día), “x” la producción de leche (kg/día), y “a” y “b” los coeficientes de la ecuación (Pulina y cols., 2005).

Diversos autores han señalado además la correlación negativa entre producción y composición de leche, puesto que los animales con producciones más elevadas presentan una leche con menor concentración de grasa y proteína, repitiéndose este fenómeno en otras razas más o menos productivas, entre rebaños o distintos animales o incluso el mismo animal en momentos distintos de la lactación (Mavrogenis y Louca, 1980; Anifantakis, 1986; Pulina, 1990). Ejemplos de este hecho son los estudios de Pellegrini y cols. (1997) en raza Lacaune o Marqués-Almeida y cols. (2007) en Assaf, que citan diferencias significativas en la producción de leche y el contenido proteico, no así para la grasa, en función de las líneas genéticas de alta o baja producción de leche.

Hay que tener en cuenta además la correlación fenotípica positiva encontrada entre grasa y proteína en leche de tanque de oveja. Arias (2009) encontró una fuerte correlación positiva entre éstos parámetros, estudiando las ganaderías de la Comunidad Autónoma de Castilla-La Mancha ( $r=0,64$ ), frente a la menor correlación encontrada en leche de oveja Manchega en control lechero ( $r=0,39$ ). Este autor explica que la diferencia entre las correlaciones es debida a la fuerte influencia de la alimentación sobre el contenido en grasa y que estos ganaderos, más técnicos y especializados, manejan con gran eficacia. Por otro lado, ha descrito correlaciones negativas de lactosa con la grasa y la proteína ( $r = -0,36$  y  $r = -0,34$ , respectivamente). Esto se debe a que la síntesis de la lactosa en el lactocito es el primer regulador del contenido en agua de la leche, que diluye a la proteína en su concentración final.

La relación entre la urea y la proteína total se ha estudiado sobre todo en vacuno lechero, encontrándose resultados muy variados. Johnson y cols. (2003) señalan una relación negativa, y Godden y cols. (2001) obtienen una relación no lineal negativa entre la proteína de la leche y el contenido en urea, mientras otros autores como Broderick y Clayton (1997) no encuentran relación entre ambos parámetros.

Otras relaciones importantes son las de pH con los componentes mayoritarios de la leche. Así en Coulon y cols. (1991) se describe una correlación positiva entre el pH y los principales componentes de la leche (especialmente la proteína, a través de una acción tampón), sin embargo Pavič y cols. (2002) encuentran relación positiva entre el pH y el extracto seco. Kuchtík y cols. (2008) indican una correlación positiva y significativa entre pH y lactosa ( $r=0,29$ ;  $p<0,001$ ) de leche de ovejas individuales, analizadas antes de cuatro horas tras su recogida.

Entre los factores que afectan a la composición de la leche se pueden citar:

#### **Raza**

Es un factor muy importante que afecta no sólo a la producción, sino también a la composición de la leche, y está influida por distintos factores genéticos, medioambientales y de manejo. Los Programas de Selección Genética en ovino lechero han actuado sobre la mejora de producción y composición de la leche, aunque hay factores inherentes a la raza como el régimen de explotación, diferente en cada una de las áreas y regiones productivas, que condiciona también la época de partos y la lactación, y, por tanto, las diferencias entre razas (Rodríguez-Nogales y cols., 2007). Las diferencias entre razas son muy importantes a nivel de la materia seca de la leche (14,5-21,4%) debidas sobre todo a diferencias en cantidad de grasa y en menor medida de proteína; no ocurre lo mismo con los restantes componentes de la leche (lactosa, cenizas, etc.), donde las diferencias entre razas no son tan acusadas (Molina y cols., 1994; Arias, 2009). En España, Rodríguez-Nogales y cols. (2007) señalan, entre las razas Churra, Castellana y Assaf, diferencias en el nivel de grasa, proteína y sólidos totales, así como en algunas fracciones caseínicas ( $\beta$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  y  $\alpha_{S1}$ -III,  $\alpha$ -Lactoalbúmina y  $\beta$ -Lactoglobulina).

#### **Estado de lactación**

La producción de leche de oveja durante el período de lactación describe una curva asimétrica, que se incrementa rápidamente durante las primeras semanas, hasta alcanzar la producción máxima (pico de lactación) entre la tercera y quinta semana, disminuyendo progresivamente hasta el secado. Entre los parámetros que influyen en la producción total de leche se encuentran el nivel máximo de producción y la fecha en la que ésta se presenta, así como la duración de la lactación. En los países mediterráneos hay que tener en cuenta que los ciclos reproductivos y productivos son estacionales y, según el sistema de explotación, están condicionados por factores externos medioambientales, destacando la importancia de la nutrición a lo largo de las distintas fases de lactación, que pueden condicionar la curva de lactación en la misma área y raza (Pugliese y cols., 2000). El patrón de la curva está influenciado por la cantidad y actividad secretora de los lactocitos, por lo que es importante conocer y controlar los factores fisiológicos y ambientales que les afectan.

Por su parte, los componentes grasa y proteína de la leche describen una curva de evolución inversa a la de producción de leche y contenido en lactosa. Así, al final de lactación, cuando la producción de leche disminuye, se produce un aumento de proteína y, sobre todo, de grasa (Pugliese y cols., 2000). Las distintas fracciones nitrogenadas se ven afectadas a lo largo de la lactación, disminuyendo el contenido de nitrógeno no proteico y de caseínas, y aumentando las proteínas séricas desde el inicio hasta el final de lactación (Baselga y Molina, 1991). Bianchi y cols. (2004) también describen el progresivo descenso en las fracciones de caseínas  $\alpha_{S1}$  y  $\beta_1$  conforme avanza la lactación mientras que otras fracciones ( $\beta_2$ ,  $\beta_3$ ,  $\beta_4$  y  $\kappa + \alpha_2$ ) van incrementándose en el mismo período.



### Estado sanitario

Existen diversos síndromes que pueden afectar a la cantidad y composición de la leche producida, tanto de origen infeccioso, parasitario, nutricional, etc. Uno de los más relevantes en ovino lechero son las infecciones intramamarias (IMI). Esta enfermedad produce pérdidas en producción lechera, además de modificar los principales componentes de la leche como consecuencia del daño que se produce en el tejido secretor mamario (Burriel y Wagstaff, 1998). La disminución del volumen de leche es normalmente superior que el descenso en la síntesis de grasa y caseína, produciéndose por tanto una concentración de estos componentes en leche (Schultz, 1977; Burriel, 1997). El contenido en lactosa de la leche disminuye ante una infección intramamaria subclínica (Burriel, 1997; Bianchi y cols., 2004), principalmente debido a la reducción en la capacidad de síntesis del tejido dañado (Burriel, 1997), pero también por la menor disponibilidad de su precursor, la glucosa, debido a la competición por conseguir energía que poseen tanto las células secretoras como las que poseen funciones fagocíticas (Rulquin, 1997); además, la lactosa amplifica el efecto de concentración citado anteriormente, ya que es el principal regulador osmótico en leche, y su descenso produce una reducción del volumen de leche (Munro y cols., 1984; Burriel, 1997). Por otro lado, se ven incrementados todos los compuestos que aparecen en leche procedente del torrente sanguíneo, como es el caso de las proteínas séricas, como consecuencia de la mayor permeabilidad de la barrera sangre-leche debido a una infección intramamaria (Leitner y cols., 2003; Bianchi y cols., 2004).



### Estación del año

La producción y calidad de la leche se encuentra influida por el fotoperiodo (Coulon, 1994). Sin embargo, los efectos estacionales son muy irregulares para el porcentaje en grasa, y más constantes en el caso del porcentaje proteico (Carta y cols., 1995).

El factor estación del año ha sido estudiado previamente en leche de tanque de oveja Manchega por Arias (2009), obteniendo valores mínimos de grasa (7,12%), proteína (5,65%) y extracto seco (18,31%) en primavera, y los máximos en otoño e invierno. Por el contrario, el porcentaje de lactosa alcanzó el máximo en los meses de invierno y primavera (4,66 y 4,70%, respectivamente) y los valores mínimos en verano y otoño<sup>1</sup>.

---

<sup>1</sup> En las condiciones actuales de producción de la raza ovina Manchega, las diferencias estacionales en la composición de la leche de tanque son cada vez menos acusadas debido a la coexistencia en el tanque de leches individuales procedentes de animales que se encuentran en diferente número y estado de lactación. La situación geográfica de cría de esta raza ha permitido un ritmo reproductivo poliéstrico continuo que permite gestaciones en cualquier época del año, y aunque sigue siendo otoño la estación más favorable, con una mayor concentración de partos en invierno y primavera (Esteban, 2003; ESROM 2018), sí está permitiendo en las ganaderías más especializadas, una planificación que permita una normalización de la cantidad de leche producida a lo largo del año.

### Alimentación

La alimentación es uno de los principales factores que afectan a la composición de la leche. De todos los componentes de la leche, la grasa es la que más se ve afectada por cambios en la alimentación, sobre todo en relación con el balance energético de los componentes de la ración, la ingesta y el origen de la fibra neutro detergente y los carbohidratos no fibrosos (Pulina y cols., 2006). Cabe destacar la importancia del pastoreo en el perfil y variabilidad de ácidos grasos de la leche (Lucas y cols., 2006; Bustos y cols., 2013), sobre todo por su interés nutricional. Otros estudios se han centrado en la modificación de la composición de la grasa a través de la genética (Mele, 2009; Moiola y cols., 2012), identificando los genes candidatos que afectan a la variabilidad de los ácidos grasos.

Por otro lado, la proteína de la leche se modifica en menor medida a través del manejo de la alimentación, dependiendo más de factores asociados con la raza, el rebaño y, en general, por factores genéticos, sobre todo en la tipología de las caseínas (Scintu y Pireda, 2007).

En cuanto a la lactosa, algunos estudios (Henno y cols., 2008; Hilali y cols., 2011), señalan que su presencia en leche de vacuno y ovino se modifica si las dietas ofrecidas a los animales están mal equilibradas, sobre todo en lo que se refiere a déficits de proteína en la ración, produciéndose un descenso en la utilización de proteína alimentaria, que condicionaban también la cantidad de lactosa en leche. No obstante, las variaciones en el contenido en lactosa están más ligadas a cambios en la producción de leche (Morand-Fehr y cols., 2007).

### Rebaño

Entre todos los factores, el rebaño tiene una alta influencia en la composición de la leche (Barillet, 1985; Sakul y Boylan, 1992), ya que en sí reúnen los factores anteriores. Hay que considerar que las diferencias productivas y en riqueza de la leche entre ganaderías de la misma raza pueden ser muy importantes por la diferente situación sanitaria, ambiental, alimentación o manejo, así como el nivel genético de los animales (Gonzalo y cols., 1994; Othmane y cols., 2002). La alimentación y tipo de ordeño son dos elementos que condicionan al factor rebaño, cobrando gran importancia en las Guías de Buenas Prácticas y Bienestar Animal de explotaciones lecheras (FAO Y FIL, 2012).

Algunos estudios han destacado la influencia del rebaño sobre la riqueza de la leche de tanque, principalmente en el porcentaje de proteína y el valor de pH (Kawęcka y cols., 2014; Claps y cols., 2016). Arias (2009) señala también la influencia significativa del rebaño sobre la grasa y la proteína, más acusada en el conjunto de ganaderías de Castilla-La Mancha que en aquellas ganaderías que realizan control lechero, debido a la mayor homogeneidad en cuanto a características relacionadas con el manejo y la sanidad.

Es importante además señalar los cambios encontrados en los niveles de urea en ganaderías explotadas bajo un sistema intensivo frente a las ganaderías extensivas. Bonnano y cols. (2013)

señalaron mayores niveles de urea en las explotaciones de vacuno de leche en intensivo frente a las extensivas, debido a la mayor ingesta de proteína en la dieta, así como la mayor relación proteína/energía de las raciones procedente de las ganaderías en intensivo.

## 2.2. CARACTERÍSTICAS COLORIMÉTRICAS.

El color es un parámetro de gran importancia en los alimentos siendo el responsable de la apariencia del producto, un aspecto esencial en la aceptación por parte del consumidor (Maegenis y cols., 2014). Se define como la “propiedad que tiene un objeto para producir diferentes sensaciones en el ojo como consecuencia de la forma en que refleja o emite la luz”.

La forma usual de cuantificación objetiva del color de los alimentos es la utilización de un sistema colorimétrico, como por ejemplo el espacio CIELAB (Figura 2), que es capaz de expresar el color a través de tres índices o coordenadas colorimétricas: “L”, luminosidad (entre 0 y 100; donde 0=blanco y 100 =negro); “a”, indica el índice de rojo, donde valores negativos (-a= verde) y valores positivos (+a=rojo); y “b”, el índice de amarillo (donde valores negativos (-b=azul) y valores positivos (\*b=amarillo)).

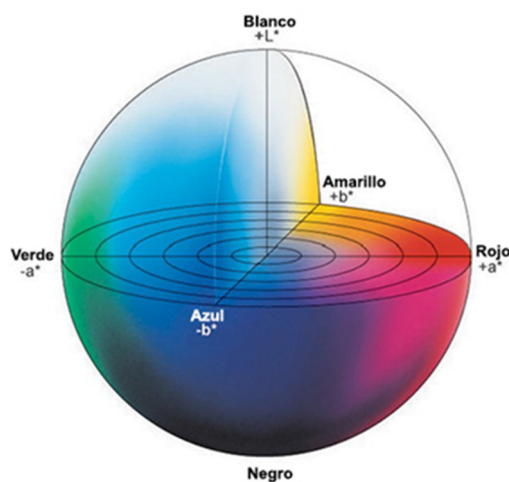


Figura 2. Representación gráfica del espacio tridimensional CIELAB ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ).

### 2.2.1. PRINCIPALES FACTORES QUE INFLUYEN EN LA VARIACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS COLORIMÉTRICAS DE LA LECHE.

La leche de oveja se diferencia de forma visual de la de cabra y vaca, entre otras características, por su aspecto blanco nacarado, semejante a la porcelana, y por su opacidad, mayor que la de la leche de otras especies (Assenat, 1991).

El color de la leche y del queso depende de muchos factores, entre los que destacan el contenido, tamaño de las partículas y distribución en la que se encuentren los sólidos totales, así como de la temperatura, tiempo de almacenamiento y procesamiento posterior (Karqui, R., 2011). Los estudios sobre la evaluación del color se han centrado en la caracterización de los quesos (Pavia y cols., 1999; Maegenis y cols., 2014), existiendo una falta de conocimiento sobre la caracterización del color de la leche y sus factores de variación, sobre todo en el caso de leche de tanque de oveja.

Los escasos estudios sobre la colorimetría de la leche han sido realizados en leche de vaca y cabra (McDermott y cols., 2016; Muelas y cols., 2017). McDermott y cols. (2016) obtienen valores de referencia para vacuno según CIELAB ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) de 81,57, -3,88 y 8,09, respectivamente, dentro de unos rangos de:  $L^*$ = 81,40 a 81,57;  $a^*$ = -4,25 a -3,79;  $b^*$ = 7,48 a 10,03; en el caso de Muelas y cols. (2017), los valores de referencia para caprino son:  $L^*$ = 85,68 a 87,90;  $a^*$ = -1,40 a -1,04;  $b^*$ = 4,79 a 6,10.

El color blanco de la leche depende de la estructura física de la leche; la dispersión tanto de las micelas de caseína como de los glóbulos grasos es la responsable de la difusión de la luz incidente y se relaciona con la luminosidad:  $L^*$  (Raty y Peiponen, 1999; García-Pérez y cols., 2005; Barłowska y cols., 2011). Además, la pigmentación natural que provocan el contenido en carotenoides, proteínas y riboflavinas, se asocian también al color blanco de la leche (Nozière y cols., 2006b; Solah y cols., 2007; Mestdagh y cols., 2011). Una leche con un bajo contenido en carotenoides, alta cantidad de proteínas y alto contenido en riboflavina tiende a ser más blanquecina (Solah y cols., 2007), que corresponde con un valor  $L^*$  mayor. Por otro lado, el color amarillo se relaciona con el nivel de  $\beta$ -carotenos y el contenido en grasa; así, una leche con mayor contenido en grasa y  $\beta$ -carotenos verá incrementado su índice de amarillo ( $b^*$ ) (Nozière y cols., 2006b). Algunos trabajos en vacuno lechero han demostrado que el tipo de alimentación altera el nivel de carotenoides de la leche y con ello, el color de los productos lácteos obtenidos (Nozière y cols., 2006a). Ejemplos de esto lo constituyen los trabajos de Nozière y cols. (2006b) y Calderon y cols. (2007), evidenciando que vacas alimentadas con pasto ensilado producían leche con una grasa más amarillenta y con mayor contenido en  $\beta$ -carotenos que aquellas vacas alimentadas con una dieta basada en heno. Otros autores (Lee y cols., 1998; Shingfield y cols., 2005) señalan sin embargo que el forraje tipo henificado da lugar a una coloración de la leche más amarillenta que la leche procedente de forraje tipo ensilado, que tiende hacia una coloración más verdosa y que tendría que ver con el contenido en riboflavinas.

En relación con la cantidad de pigmentos, Nozière y cols. (2006a) señalaron que la leche de los pequeños rumiantes, a diferencia del bovino, tiene niveles superiores de retinol y xantofilas, y generalmente bajo contenido en  $\beta$ -carotenos en la leche, lo que explicaría las diferencias en color de los productos de cada especie. Además, Yang y cols. (1992) destacaron que la luteína era el único carotenoide que se encontraba en sangre y tejido adiposo en el ganado ovino, aunque

posteriormente [Prache y cols. \(2005\)](#) demostraron que en el plasma de corderos se aislaba zeaxantina,  $\beta$ -caroteno en baja concentración y otros carotenoides desconocidos.

El color y contenido en grasa de la leche poseen una influencia decisiva sobre las características colorimétricas de los productos elaborados a partir de ella ([Winkelman y cols., 1999](#)). [Nozière y cols. \(2006b\)](#) realizaron un estudio para evaluar las diferencias entre quesos “Caciocavallo Palermitano” elaborados a partir de leche de una raza autóctona y alimentadas a base de pastos, y quesos elaborados a partir de otras razas bajo un régimen de producción intensivo y alimentadas a base de heno y concentrado. Observaron diferencias significativas en el índice de amarillo, siendo más amarillos los quesos obtenidos con leche de razas en régimen intensivo. Estos autores señalaron que las diferencias eran debidas al mayor nivel de carotenoides de los concentrados consumidos por las razas en intensivo, pero también por las diferencias entre razas. En contraposición, [Boloventa y cols. \(2014\)](#) señalaron que aquellos quesos elaborados con leche de vacas alimentadas con un pasto rico en nutrientes presentan más valor de índice de amarillo; sin embargo, destacan que la madurez del pasto, así como las técnicas de conservación posterior del forraje (fresco, henificado o ensilado) afectan a la concentración de carotenoides, con lo que el efecto de la composición botánica inicial es discutible. Además, se ha estudiado la acción de la microflora sobre el color del queso, tanto a través de una acción directa (efecto tanto de la microflora natural como de los fermentos añadidos artificialmente) ([Chatelain y cols., 2003](#)), como indirecta, debido a los cambios estructurales que la microflora produce en el queso ([Buffa y cols., 2001](#)).

### **2.3. CARACTERÍSTICAS HIGIÉNICO-SANITARIAS DE LA LECHE CRUDA.**

La Organización Mundial de la Salud define la higiene alimentaria como el conjunto de condiciones y medidas que deben estar presentes en todas las etapas de producción, almacenamiento, transformación, transporte, conservación y cocinado doméstico del alimento, para garantizar su salubridad.

En los últimos años, las autoridades sanitarias en materia de higiene alimentaria se han ocupado de los aspectos relativos a la prevención y control de los peligros biológicos, químicos o físicos que pueden afectar a los alimentos. Para su aseguramiento se elaboró el denominado “Paquete de Higiene de los Productos Alimentarios de la Unión Europea”, integrado por varios reglamentos comunitarios ([Reglamento \(CE\) nº 178/2002](#); [Reglamento \(CE\) nº 852/2004](#); [Reglamento \(CE\) nº 853/2004](#); [Reglamento \(CE\) nº 854/2004](#)), y sus modificaciones, en los que se fijan los principios de la legislación alimentaria, la higiene de los productos alimenticios, las normas de higiene de los productos de origen animal y se establecen los controles oficiales relativos a todos estos aspectos. Los reglamentos establecen la necesidad de detectar y controlar los peligros alimentarios presentes en la producción primaria, y la necesidad de promover la aplicación de Guías de Prácticas Correctas de Higiene. Los productores de leche deberán controlar aspectos relacionados con la sanidad animal,



la transmisión de patógenos, la limpieza de instalaciones y equipos, o la posible contaminación provocada por el agua, el personal manipulador, plagas, residuos y sustancias peligrosas, a la vez que se realiza un correcto uso de aditivos en piensos y medicamentos a los animales (Sección IX, Reglamento (CE) nº 853/2004).

La calidad higiénica de la leche cruda se puede evaluar teniendo en cuenta diversos criterios: gérmenes patógenos y saprofitos, toxinas microbianas, células somáticas, biocidas y residuos químicos ambientales, etc. (Heesch, 1987).

### 2.3.1. CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS.

Por su alta variabilidad en la composición nutricional (proteínas, grasas, carbohidratos, vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales), su pH cercano a la neutralidad y su alta actividad de agua, la leche es un alimento que puede contener una carga microbiana muy variada. Algunos de estos nutrientes están disponibles directamente para todos los microorganismos, mientras que otros se obtienen a través de su procesamiento previo por ciertos grupos microbianos que los liberan y que permiten que otros microorganismos puedan utilizarlos (Frank, 1997).

Los microorganismos presentes en ella pueden provenir de diferentes fuentes y pueden estar involucrados en diferentes procesos, como su participación en las fermentaciones a través de la producción de lactato, pero también tienen un impacto negativo en la calidad de la leche y en el mantenimiento de su vida media, causando alteraciones en la leche en sí o en sus productos derivados, así como también repercusiones sanitarias derivadas del consumo de leche contaminada con determinados microorganismos. Es importante tener conocimiento de su procedencia, su significancia en el procesamiento de la leche y productos derivados, y su relación con la calidad de los alimentos (Quigley y cols., 2013), en el actual contexto de la promoción de la salud, seguridad y calidad de los productos alimenticios.

La leche es virtualmente estéril cuando es secretada dentro de los alveolos de una ubre sana (Tolle, 1980). Sin embargo, algunos estudios desarrollados en vacuno ponen en duda la afirmación anterior considerando que uno de los mecanismos de transmisión de patógenos hacia la leche podría ser el paso directo desde la sangre de la hembra lactante hasta la leche a consecuencia de una infección sistémica (Oliver y cols., 2005). Además, algunos trabajos demuestran la presencia de bacterias procedentes del tracto gastrointestinal en leche humana y de vaca (Jiménez y cols., 2008; Young y cols., 2015).

Una vez que la leche se ha producido, la colonización bacteriana puede provenir de tres fuentes principales (Bramley y McKinnon, 1990): desde el interior de la ubre, del exterior de la ubre o de las diferentes superficies durante el manejo de la leche y el equipo de almacenamiento. A su vez, la colonización y desarrollo de los microorganismos puede estar influenciado por diversos factores

ambientales, tales como el pH, la temperatura, el agua disponible, la concentración de nutrientes, la presencia de sustancias antimicrobianas, así como las propias interacciones entre los microorganismos colonizadores (CNAOL, 2011).

Con el fin de evaluar y controlar la calidad microbiológica de la leche se han desarrollado una serie de métodos que permiten analizar los principales grupos microbianos de interés. Los métodos tradicionales de cultivo directo en placa han permitido conocer la identidad de numerosos microorganismos, a través de la siembra, crecimiento en condiciones específicas, recuento e identificación posterior. Ésta última se basa tanto en métodos fenotípicos como genotípicos y pueden incluir una caracterización morfológica, bioquímica o fisiológica (Quigley y cols., 2011). Muchos de éstos cultivos se siguen utilizando por la industria alimentaria, en base a normas y protocolos estandarizados nacionales e internacionales, ya que requieren escasos medios técnicos, siendo además económicamente viables, aunque se caracterizan por tener un poder discriminatorio insuficiente. Debido a ello se han desarrollado otras técnicas basadas en análisis de ADN, principalmente mediante técnicas de biología molecular como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la electroforesis en gel con gradiente de desnaturalización (DGGE), la electroforesis en gel en gradiente de temperatura, etc. Más recientemente ha habido una evolución en las tecnologías de secuenciación de ADN de nueva generación que son capaces de determinar millones de lecturas de secuencias en un único análisis (Quigley y cols., 2013).

Jayarao y Wolfgang (2003) han realizado diversos estudios sobre la calidad microbiológica diferencial de la leche de vaca utilizando métodos clásicos de cultivo. Estos autores consideran indispensable, para obtener resultados fiables y repetibles al aplicar esta metodología, la adopción de un protocolo de recogida de muestras donde se incluya el número de muestras a estudio, la frecuencia de muestreo, el volumen de muestra, el proceso de recogida, etc. Son diversos los medios de cultivo, test bioquímicos, de identificación, etc., disponibles en el mercado para determinar los distintos grupos microbianos que puede contener la leche cruda (Frank y cols., 2004).

La calidad microbiológica diferencial de la leche de oveja ha sido menos estudiada que en leche de vaca. Los estudios que se han realizado se basan en determinar la frecuencia de aparición de microorganismos procedentes de la leche cruda de oveja y que se consideran patógenos para los humanos (Verraes y cols., 2014). Algunos estudios que sí analizan el recuento diferencial en leche de tanque de oveja son el de De Garnica (2013a) en ovejas en Castilla-León, así como otros estudios realizados en diferentes países europeos: en Suiza por Muehlherr y cols. (2003) y en Grecia por Alexopoulos y cols. (2011).

A continuación se describen los grupos generales y diferenciales más destacados.

### 2.3.1.1 RECUENTO DE GÉRMENES TOTALES.

Se define como el número de unidades formadoras de colonias por mililitro (ufc/mL), que crecen en un medio de cultivo general, como por ejemplo Plate Count Agar (PCA), etc., usado para monitorizar la flora viable de la muestra en cuestión. En realidad, no es una estimación de la población bacteriana total de la muestra, sino de la fracción de la microflora capaz de producir colonias en el medio utilizado en las diferentes condiciones de incubación. Así, se pueden realizar los distintos recuentos en función del tiempo y temperatura de incubación.

#### a) Gérmenes Mesófilos totales (MESO).

Los microorganismos aerobios mesófilos son aquellos cuyas temperaturas óptimas de crecimiento se encuentran entre los 25 y los 40°C, y son los gérmenes (bacterias, levaduras y hongos filamentosos) que forman colonias contables en un medio de cultivo, en condiciones de aerobiosis, y a una temperatura y tiempo determinado. Con ello se estima la flora total, sin poder determinar el tipo de microorganismo. La norma de referencia que la legislación contempla actualmente es la [ISO 4833:2003](#), especificando como tiempo y temperatura de incubación: 72 horas a 30°C.

En vacuno, diversos estudios han definido los rangos para MESO ([Jayarao y cols., 2004](#); [Wallace, 2008](#); [PMO, 2017](#)). Así, MESO<1.000 ufc/mL indican no sólo que la leche de tanque procede de vacas en buenas condiciones higiénico-sanitarias, sino que además ha sido recogida siguiendo un protocolo higiénico eficaz. Hay que decir que, en los actuales sistemas de producción de las granjas, resulta difícil evitar la contaminación por microorganismos de la leche, aunque se obtienen recuentos <10.000 ufc/mL en la mayoría de las granjas de vacuno. El incremento del recuento de MESO en leche cruda se produce durante el ordeño, y puede deberse a: (1) pezones y ubres sucias, (2) mastitis causadas por coliformes, estreptococos ambientales o estafilococos coagulasa negativos, (3) suciedad y falta de higiene en el equipo de ordeño y (4) la incapacidad para el enfriamiento rápido de la leche por debajo de los 4°C ([Hayes y cols., 2001](#); [Jayarao y Wolfgang, 2003](#)).

Es importante destacar los estudios en vacuno lechero de [Jayarao y cols. \(2004\)](#), quienes señalaron la necesidad de establecer una relación entre las diferentes prácticas productivas de las granjas y los grupos microbianos específicos en leche de tanque, con el objetivo de establecer su origen y sus variaciones en función de las prácticas de manejo.

En sus resultados señalan la relación entre el uso de técnicas de pre y postdipping y un descenso MESO, así como un mayor recuento de MESO cuando se aplica el baño de pezones mediante pulverización frente al de inmersión. Además, señalan la relación entre el incremento de MESO y de los recuentos de gérmenes termodúricos, psicrotrofos y patógenos de mamitis ambientales.

En ovino lechero, los recuentos de MESO son mucho más elevados que en vacuno ([Tomáška y cols., 2006](#)). [De Garnica y cols. \(2013b\)](#) explican que la menor producción individual de leche en ovinos, la

ausencia del lavado de pezones previo al ordeño e instalaciones higiénicamente más deficientes, comparadas con las del ganado vacuno, podrían explicar los mayores recuentos en leche de ovino con respecto a la leche de vacuno. Muehlherr y cols. (2003), en ovino lechero en Suiza, señalaron valores medios de 4,78 ufc/mL. Resultados superiores han sido obtenidos por De Garnica y cols. (2011) en leche de tanque de oveja en Castilla y León, con un valor medio de 5,36 ufc/mL, dentro de un rango entre 4,00 y 7,25 log ufc/mL (CV=13,59%). Este parámetro puede verse afectado por diversos factores como el manejo higiénico de las ganaderías a lo largo del año, el tipo de programa de control de mamitis aplicado, la aplicación de terapia de secado, etc., tal y como señalaron De Garnica y cols. (2013b). Pero también, este recuento se ve afectado por el tiempo transcurrido tras la recogida de la leche del tanque, con un aumento de dos unidades logarítmicas tras cuatro días de recogida de la leche (Sanjuán y cols., 2003). En leche de tanque de oveja Manchega se ha comprobado que no existe diferencia en el recuento de MESO en la leche de 1 y 2 días de almacenamiento en el tanque de refrigeración, pero sí se observó un aumento significativo de gérmenes mesófilos en la leche de 3 días, con un incremento en el recuento del 17,93% (Oliete y cols., 2010; Oliete y cols., 2011).

El Reglamento (CE) nº 853/2004 contempla el recuento de colonias de gérmenes a 30°C como criterio de calidad higiénica de la leche, estableciendo un máximo de 500.000 ufc/mL en el caso de leche cruda destinada a la fabricación de productos lácteos, mediante un proceso que no implique ningún tratamiento térmico, y de 1.500.000 ufc/mL para la leche que va a ser sometida a tratamiento térmico. En los sistemas de control de la calidad, esta determinación se realiza actualmente en los laboratorios interprofesionales mediante equipos automatizados de citometría de flujo (por ejemplo: Bactoscan FC, Foss electric). Sin embargo, como se ha comentado, diversos autores consideran que este criterio es poco específico para determinar la calidad higiénica de la leche (Jayarao y cols., 2004), y plantean la conveniencia de incluir la determinación de otros grupos microbianos de interés sanitario, tecnológico, etc.

#### **b) Gérmenes Termodúricos (TERMO).**

Los microorganismos termodúricos son aquellos capaces de resistir temperaturas de pasteurización. Su recuento expresa el número de microorganismos que son capaces de sobrevivir a una temperatura de 62,8°C durante 30 minutos, o un ratio de temperatura/tiempo equivalente (Frank y Yousef, 2004). Este tratamiento generalmente reduce la flora psicrotrofa y mesófila, incluyendo muchos de los patógenos mamarios. Además, existen muchas bacterias que tras la pasteurización quedan en un estado denominado “bacterias viables pero no cultivables”, aquellas que no se multiplican en los métodos de cultivos tradicionales (Quigley y cols., 2013).

En este grupo se incluyen los microorganismos esporulados, cuya fuente de contaminación es el suelo, el ensilado o el material de las camas, y utilizan los carbohidratos, proteínas y lactosa de la

leche (Driehuis, 2013; Arias y cols., 2013). Algunos de estos microorganismos pertenecen al género *Clostridium*, que provocan un importante defecto tecnológico denominado hinchazón tardía, y defectos de la textura en quesos (Vissers y cols., 2009). Otros gérmenes importantes son los *Bacillus cereus*, anaerobios facultativos esporulados, asociados a alteraciones de sabor, textura, etc., relacionados con el desarrollo de toxiinfecciones alimentarias (Driehuis, 2013). Asimismo, hay algunas cepas de gérmenes no esporulados resistentes al calor, en concreto cepas de *Micrococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Corynebacterium* y *Alcaligenes*.

Jarayao y cols. (2003), en leche de vaca, indicaron que se pueden considerar altos los recuentos de TERMO superiores a 200 ufc/mL. En un estudio posterior (Jayarao y cols., 2004), obtuvieron un valor medio inferior (125 ufc/mL), encontrando que un 90% de las muestras presentaban valores inferiores a 1.240 ufc/mL. En este último estudio también concluyeron que muestras de TERMO>100 ufc/mL tenían 4 y 3 veces más probabilidad de tener medios y altos recuentos de estafilococos coagulasa negativos y estreptococos, respectivamente, que con recuentos de TERMO<100 ufc/mL.

En ovino lechero De Garnica y cols. (2011) obtuvieron valores medios de 2,41 log ufc/mL (257 ufc/mL), en un rango entre 1,00 y 4,02 log ufc/mL (CV=24,82%). En ovino Manchego, Jiménez y cols. (2014) obtuvieron unos valores medios para el recuento de termodúricos de 3,29 log ufc/mL (1.949 ufc/mL), con el 46,65% de las muestras en un rango inferior a 1.000 ufc/mL. Gonzalo y cols. (2013), distingue la leche con bajos niveles de termodúricos aquella con recuentos inferiores a 400 ufc/mL, y con altos niveles aquellas con recuentos superiores a 2.200 ufc/mL.

La determinación de termodúricos es importante para la evaluación de posibles problemas derivados del nivel de limpieza y desinfección del equipo de ordeño, así como de la aplicación de prácticas incorrectas, tanto a nivel de instalaciones como en el manejo de la alimentación (Arias y cols., 2013; De Garnica y cols., 2013b).

### c) Gérmenes psicrotrofos (PSICRO).

El recuento de psicrotrofos determina el número de bacterias que son capaces de crecer a una temperatura de 0-7°C y forman colonias viables en 7-10 días (White y cols., 1992). En este grupo se han detectado microorganismos gram-positivos de las clases *Bacilli*, *Clostridia* y *Actinobacteria*, así como gérmenes gram-negativos pertenecientes a la familia Gammaproteobacteria (sobre todo Pseudomonadales), que pueden crecer en grandes cantidades durante los periodos de almacenamiento de la leche en condiciones de refrigeración (Raats y cols., 2011). Chambers (2005), Ercolini y cols. (2009) y Vithanage y cols. (2016) señalaron también la presencia de especies gram-positivas pertenecientes al género *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Microbacterium*, *Staphylococcus* y *Carnobacterium*.

La leche conservada a temperatura de refrigeración se deteriora conforme aumenta el número de psicrotrofos, reduciendo su vida útil, sobre todo porque producen enzimas termorresistentes, que causan defectos en la leche y sus productos debido a su acción proteolítica o lipolítica sobre sus componentes principales (Hantsis-Zacharov y Halpen, 2007; Koka y Weimer, 2001).

Estudios en vacuno lechero han indicado valores medios de PSICRO de 4,47 log ufc/mL (29.600 ufc/mL) (Elmoslemany y cols., 2009a). Otros estudios han determinado que el 50% de las muestras recogidas de leche de tanque tenían unos recuentos de PSICRO < 12.500 ufc/mL (Jarayao y cols., 2004). En general, se entiende que para determinar si el recuento de PSICRO es elevado, hay que tomar como referencia el recuento de MESO (Wallace, 2008). Así, cuando el recuento de psicrotrofos alcanza un valor de tres a cuatro veces superior al recuento de MESO, se consideraría elevado y estaría indicando la existencia de problemas relacionados con la limpieza y la higiene del equipo de ordeño, así como una deficiente preparación de la ubre previa al ordeño. Estos autores consideran que otros problemas, como la presencia de mamitis en vacuno, podrían venir asociados con recuentos elevados de MESO y PSICRO, con niveles iguales o superiores a las 50.000 ufc/mL en ambos casos. No obstante, para una correcta interpretación del estado higiénico de una ganadería sería conveniente también tener en cuenta el recuento de los coliformes totales, puesto que recuentos de este grupo > 100 ufc/mL estarían relacionados con prácticas incorrectas en el ordeño, equipos sucios, agua contaminada, instalaciones de ordeño sucias o animales con mastitis clínica o subclínica (Wallace, 2008).

En ovino, se han obtenido recuentos de psicrotrofos entre 500 y 50.000 ufc/mL en leche de muestras individuales en Grecia (Fotou y cols., 2011). Gonzalo y cols. (2013) señalaron como bajos los recuentos de psicrotrofos inferiores a 200.000 ufc/mL, que se corresponden con MESO ≤ 100.000 ufc/mL, y altos los recuentos de psicrotrofos en aquellos superiores a 3.000.000 ufc/mL. De Garnica y cols. (2013b) indican un recuento medio de PSICRO en leche de tanque de 5,70 log ufc/mL en Castilla y León, y Jiménez y cols. (2014) de 4,89 log ufc/mL en Castilla-La Mancha.

Este recuento varía mucho en función de la estación del año, aunque suelen aumentar en invierno. Estas variaciones estarían asociadas a las diferencias en el manejo higiénico de las ganaderías a lo largo del año, recomendando el establecimiento de las prácticas higiénicas necesarias en cada estación del año (De Garnica y cols., 2013b). Algunos estudios en leche de tanque han evidenciado la influencia de los días de recogida sobre el recuento de psicrotrofos (Oliete y cols., 2011; De Oliveira y cols., 2015). Concretamente en el trabajo de Oliete y cols. (2011) se observó un incremento del 23,86% en el recuento de psicrotrofos en la leche recogida a los tres días respecto a aquella recogida a los dos días tras el ordeño.

### 2.3.1.2. RECUENTO DE GRUPOS MICROBIANOS ESPECÍFICOS.

La relativa información que proporciona el recuento de gérmenes totales para determinar la calidad higiénico-sanitaria de la leche, que reportan diversos estudios tanto en vacuno como en ovino lechero, podría ser completada con la determinación de diversos grupos microbianos presentes en la leche cruda, y que ofrecen información sobre el estado higiénico de la ganadería, sobre su estado sanitario, etc. (Jayarao y cols., 2004; De Garnica y cols., 2013b). Tanto es así, que los sistemas de control de calidad ya contemplan, como en el caso de Francia (Décret nº 2012-1250), la posibilidad de realizar las siguientes determinaciones: recuentos de esporas butíricas, de estafilococos coagulasa positivos, coliformes, pseudomonas, enterobacterias, mohos y levaduras, etc.

A continuación se describen los grupos de gérmenes específicos más importantes en leche cruda.

#### a) Bacterias ácido lácticas (BAL).

Las bacterias lácticas (BAL) son un grupo de microorganismos representados por varios géneros con características morfológicas, fisiológicas y metabólicas en común. En general las BAL son cocos o bacilos gram positivos, no esporulados, no móviles, anaeróbicos, microaerófilos o aerotolerantes; oxidasa, catalasa y benzidina negativas, carecen de citocromos, no reducen el nitrato a nitrito y producen ácido láctico como el único o principal producto de la fermentación de carbohidratos (Carr y cols., 2002; Vázquez y cols., 2009). Además, las BAL son ácido tolerantes pudiendo crecer algunas a valores de pH tan bajos como 3,2, otras a valores tan altos como 9,6, y la mayoría crece a pH entre 4 y 4,5, permitiéndoles sobrevivir naturalmente en medios donde otras bacterias no aguantarían la aumentada actividad producida por los ácidos orgánicos (Carr y cols., 2002).

Las BAL tienen una gran importancia tecnológica e industrial. Su habilidad acidificadora ha permitido a lo largo de los siglos la obtención de productos lácteos y que, en la actualidad, diversas especies sean usadas como cultivos iniciadores para esta función. Las BAL son capaces de transformar la lactosa de la leche en ácido láctico, a través del proceso de la glicolisis, produciéndose un descenso rápido del pH y permitiendo con ello la obtención de queso y otros productos derivados, creando un ambiente ácido donde otras bacterias no sobreviven (Johnson y Steele, 2013). Desde el punto de vista tecnológico, también hay que citar la contribución de estas bacterias en el sabor de los productos derivados de la leche, ya que producen enzimas que contribuyen al desarrollo de sabores a través de tres mecanismos: la glicolisis, la lipólisis y la proteólisis. La rotura de las caseínas es el mecanismo que más influye en el desarrollo de sabores de quesos curados y semicurados, ya que se forman pequeños péptidos y aminoácidos libres que se transforman posteriormente en alcoholes, aldehídos, ácidos y ésteres (Poveda y cols., 2004; Smit y cols., 2005).

Algunos de los géneros BAL más comunes en los productos derivados de la leche son *Lactobacilli*, *Lactococcus*, *Bifidobacteria*, *Streptococcus*, *Enterococcus* y *Pediococci*. Dentro de estos géneros,

existen especies que son usadas como cultivos iniciadores para la elaboración de productos concretos: *Lc. lactis ssp. lactis*, *Lc. lactis ssp. cremoris* y *L. mesenteroides ssp. cremoris* (queso Manchego); *Lactococcus lactis spp. lactis* y *L. lactis spp. cremoris* (queso Cheddar); *Lactobacillus helveticus*, *Lb.delbruecki spp. bulgaricus* y *Lb.casei* (quesos suizos/italianos); *Streptococcus thermophilus* (quesos tipo suizos/yogurts) (Poveda y cols., 2003; Leroy y DeVuyst, 2004).

Las BAL poseen una habilidad que les permite sobrevivir en diferentes circunstancias y que se basa en la creación de un ambiente ácido a través de la ruptura de carbohidratos como lactosa, maltosa, lactulosa y sacarosa. Por un lado, esta habilidad hace que contribuyan a mantener el equilibrio natural y óptimo de la microbiota de la glándula mamaria, ya que compiten con bacterias patógenas por la colonización de éste tejido. Esto es posible gracias a diferentes mecanismos: la capacidad de modular la expresión de la virulencia, la estimulación al sistema inmune y la inhibición del desarrollo y multiplicación de los patógenos mamarios. Es por esto por lo que algunos estudios se han centrado en el aislamiento de algunos de estos microorganismos con el objetivo de utilizarlos como “probióticos mamarios” en el tratamiento de las mastitis, como alternativa al uso de antibióticos (Bouchard y cols., 2015). Además, muchos de estos microorganismos (*Lactococcus*, *Lactobacillus*, etc.) son capaces de producir bacteriocinas que tienen también propiedades antimicrobianas (Claeys y cols., 2013).

No todos los integrantes de este grupo poseen características tecnológicamente favorables para la elaboración de productos lácteos. Algunas bacterias comensales son capaces de producir una rápida degradación de la leche en condiciones de almacenamiento por encima de la temperatura de refrigeración de la leche (acidificación, coagulación), haciéndola inadecuada para su consumo (Claeys y cols., 2013; Quigley y cols., 2013), además de poder generar otros efectos negativos, como por ejemplo la producción de aminas biógenas (Zuljan y cols., 2016).

Los estudios realizados en leche de tanque de oveja señalan recuentos medios de 4,2 ufc/mL (Delavenne y cols., 2012). Gaya y cols. (1999), indicaron en leche cruda de oveja valores medios de BAL de 6,85 log ufc/mL y de *Lactobacillus* de 4,78 log ufc/mL, en un estudio para evaluar la diversidad en *Lactobacillus* de leche y queso de oveja. Otros autores señalan rangos entre 3,54 y 7,08 log ufc/mL en el País Vasco (Pérez-Elortondo y cols., 1999), y de 4,44 a 5,04 log ufc/mL en Italia (Centi y cols., 2017).

Este grupo de microorganismos se encuentra en grandes cantidades en el ambiente y en el aparato digestivo. Algunos estudios en vacuno han encontrado el mismo tipo de bacterias BAL en la superficie del pezón y en la leche cruda, evidenciando un posible origen desde el cual estas bacterias podrían pasar a la leche (Vacheyrou y cols., 2011).



**b) Cocos gram-positivos catalasa-negativos (CGPCN)<sup>2</sup>.**

Este grupo de gérmenes ha sido distinguido por [Jayarao y Wolfgang \(2003\)](#) en leche de vaca. Es un grupo muy heterogéneo, con gérmenes que son contagiosos (*Streptococcus agalactiae*) o ambientales (*Streptococcus* y microorganismos similares: *Enterococcus*, *Lactococcus* y *Aerococcus*) y que resulta difícil de diferenciar con los métodos tradicionales de aislamiento y los test de identificación bioquímica y enzimática.

Este grupo de microorganismos se encuentran distribuidos en el ambiente que rodea a los animales, principalmente en camas, heces, etc., y suelen encontrarse en la piel del pezón ([Jayarao y cols., 2004](#)). En leche de tanque en vacuno se han aislado algunos microorganismos, pertenecientes al género *Streptococcus*, *Enterococcus* (*E. faecium*), *Lactococcus* y *Aerococcus*. Otros miembros del grupo de GPCNC también han sido descritos como gérmenes oportunistas emergentes o patógenos nosocomiales en humanos (*Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, por ejemplo). Existen además *Enterococcus* que poseen un papel importante en el desarrollo de la coagulación y el aroma de algunos quesos tradicionales, siendo utilizados algunos de ellos además como probióticos ([Franz y cols., 2003](#)).

Por otra parte, *Streptococcus uberis* y *Streptococcus dysgalactiae* son la causa más común de mastitis en vacuno (siendo denominada “mastitis ambiental”) durante la lactación temprana y el período seco, y se transmiten durante el ordeño procedentes de diferentes localizaciones ambientales ([Jayarao y Wolfgang, 2003](#)). Asimismo, la presencia de estos microorganismos también ha sido asociada a cuadros de mastitis clínica y subclínica en ovino lechero ([Bergonier y cols., 2003a](#); [Marogna y cols., 2010](#)). [Fenlon y cols. \(1995\)](#) indican una alta correlación entre el recuento de estreptococos patógenos mamarios en leche de tanque y el recuento de células somáticas, incluso más elevada que con *Staphylococcus aureus*. [Gómez y cols. \(1997\)](#) indican la alta prevalencia (14,30%) de los estreptococos en leche de oveja Manchega.

En cuanto a los niveles de GPCNC en leche de tanque, [Jayarao y cols. \(2004\)](#) obtuvieron en vacuno un valor medio de 2,91 log ufc/mL (820 ufc/mL), con un 50% de las muestras recogidas con recuentos

---

<sup>2</sup> Los cocos gram-positivos catalasa-negativos engloba a un grupo diverso de bacterias que actúan como agentes oportunistas en infecciones, con diferente importancia clínica y tecnológica en leche y productos derivados. Pertenecen a las bacterias ácido lácticas (BAL) de bajo contenido en guanina+citosina y al filo *Firmicutes*. Dentro de este grupo se incluyen microorganismos pertenecientes al género *Streptococcus* y microorganismos parecidos, pertenecientes a diversos géneros, pero íntimamente relacionados taxonómicamente (*Enterococcus* y *Lactococcus*, principalmente) ([Sawant y cols., 2002](#)); aunque en la actualidad se han descrito no menos de 14 géneros dentro de este grupo taxonómico. Algunas de las características que poseen es la producción de beta- o alfa hemólisis, hidrólisis de esculina y crecimiento en medio 6,5% NaCl, formación de tétradas, etc. ([Facklam y cols., 1995](#); [Bosshard y cols., 2004](#)). La identificación precisa a nivel de género y especie de CGPCN no es posible siempre en los laboratorios, pues se basa en pruebas fenotípicas y bioquímicas, las cuales son insuficientes para poder discernir entre especies que poseen el mismo perfil fenotípico ([Sawant y cols., 2002](#); [Fortin y cols. 2003](#); [Zadoks y cols. 2011](#)). El desarrollo de técnicas de identificación basadas en la comparación de secuencias del 16S ADN en bases de datos ha permitido una identificación a nivel de género y especie mucho más rápida y precisa, además de su clasificación filogenética ([Facklam y cols., 1995](#); [Giraffa 2007](#)).

<2,95 log ufc/mL (900 ufc/mL). Establecieron además tres categorías según el recuento de estreptococos ambientales (baja: <50 ufc/mL, media: 500-1.000 ufc/mL y alta:  $\geq 1.000$  ufc/mL), existiendo una relación directa entre altos recuentos de estreptococos, mesófilos y estafilococos coagulasa negativos. En ovino lechero, De Garnica y cols. (2013b) obtuvieron unos recuentos medios en leche de tanque de 2,95 log ufc/mL, destacando la importancia de estos microorganismos sobre la respuesta celular. Además, evidenciaron como la estación, el tipo de ordeño (manual o mecánico) y unas deficientes prácticas higiénicas son los factores que más afectaron al recuento de CGPCN.

Por su importancia, debemos destacar el *Streptococcus agalactiae*, considerado como patógeno mamario contagioso, que se ha aislado en gran número en glándulas mamarias infectadas en vacuno, siendo fácilmente cultivable a partir de leche de tanque. La incidencia de este patógeno evidencia graves deficiencias en la prevención de mastitis y prácticas de control higiénico-sanitarias (no separación de los animales enfermos del ordeño, falta o uso inadecuado de la desinfección de pezones, etc.) que aumentan el riesgo de una mayor propagación en el rebaño (Jayarao y Wolfgang, 2003). Ariznabarreta y cols. (2002) y Gonzalo y cols. (2002), en ovino lechero, indican que es una especie que provoca una alta respuesta inflamatoria, con recuentos celulares de 7,28 y 6,54 log cel/mL, respectivamente. Gómez y cols. (1997) también aislaron *Streptococcus agalactiae* en un 4,5% de las ovejas Manchegas CMT+. De Garnica y cols. (2011), en leche de tanque de ovino, obtuvieron unos recuentos para este microorganismo de 3,67 log ufc/mL (4.670 ufc/mL) y señalaron el efecto sobre sus niveles del tiempo de almacenamiento de la leche en el tanque.

### c) Estafilococos (SC).

Los estafilococos son células esféricas gram-positivas, generalmente dispuestas en racimos irregulares parecidos a racimos de uvas; crecen con rapidez sobre muchos tipos de medios y son metabólicamente activos, fermentan carbohidratos, producen pigmentos que varían desde el color blanco hasta el amarillo intenso. Algunos son miembros de la flora normal de la piel y mucosa de los seres vivos; otros causan supuración, formación de abscesos e infecciones piógenas. Los estafilococos patógenos suelen causar hemólisis de los eritrocitos y coagulación del plasma, además de producir enzimas y toxinas extracelulares (ITIS, 2019).

Este grupo incluye los principales microorganismos involucrados con el desarrollo de infecciones intramamarias (IMI), y que provocan importantes pérdidas económicas en el rebaño. Estas pueden manifestarse con síntomas locales o sistémicos (mastitis clínica), o de forma asintomática (mastitis subclínica).

Por un lado, las mastitis clínicas suelen tener una incidencia baja (<5% al año) y los casos que aparecen suelen ser esporádicos (Bergonier y cols., 2003a; Contreras y cols., 2007), aunque con repercusiones económicas y productivas importantes: disminución o pérdida de la producción de leche, costes en tratamientos veterinarios y sacrificio/reposición de los animales. La leche de

animales con mamitis clínica no debería de afectar a la calidad global de la leche de tanque, ya que el animal enfermo se detecta y la leche debe eliminarse.

Por otro lado, las infecciones intramamarias subclínicas son consideradas como el principal factor que afecta a calidad y cantidad de la leche producida por las ovejas (Albenzio y cols., 2002; Leitner y cols., 2004). En este caso se produce una pérdida en la producción de leche debido al daño continuado de la infección sobre el tejido mamario, que se acentúa por una mayor dificultad en la detección de los animales afectados y el mayor grado de riesgo de contaminación de animales enfermos y sanos (Leitner y cols., 2008).

*Staphylococcus aureus*, coagulasa positivo, ha sido tradicionalmente considerado como el principal agente causante de mamitis clínica, apareciendo con menos frecuencia en casos de mamitis subclínica (Fthenakis, 1994; Las Heras y cols., 1999). El aislamiento de este microorganismo en leche puede ser indicativo de la primera etapa del desarrollo de una mamitis clínica, aunque si las defensas del hospedador son capaces de limitar su invasión, puede no llegar a evidenciarse síntomas clínicos (Vasileiou y cols., 2017). Esta especie se ha clasificado en 4 grupos (I, II, III, IV), según el locus agr (gen regulador accesorio o regulador global de virulencia), que condiciona la producción de exoproteínas, incluyendo exoenzimas, toxinas, proteínas de superficie, y otros factores de virulencia (Vautor y cols., 2007). Además, la habilidad de este microorganismo para formar biofilms le permite sobrevivir en condiciones desfavorables, así como desencadenar en el hospedador infecciones crónicas persistentes (Costerton y cols., 1999).

Este microorganismo provoca toxiinfecciones por el consumo de leche y productos derivados, debido a la capacidad de algunas cepas de producir enterotoxinas termoestables (Little y cols., 2008). Diversas investigaciones han estudiado la presencia de estas toxinas en quesos, y señalan la necesidad de mejorar las condiciones higiénicas de la producción de leche para prevenir esta circunstancia (Poli y cols., 2007). Asimismo, el Reglamento (CE) nº 2073/2005, limita a  $10^5$  ufc/g el contenido máximo de estafilococos coagulasa positivos en queso, como indicador de control de procesos en la industria, para en su caso efectuar la detección de toxina termoestable y establecer medidas de mejora de las las condiciones higiénicas de obtención de la leche. Existe además otro problema sobre la salud pública, derivado en este caso de la resistencia que adquieren a los antibióticos diferentes cepas de *Staphylococcus aureus* (Vautor y cols., 2007).

Diversos estudios han determinado los niveles de *Staphylococcus aureus* en leche de tanque de oveja. Muehlherr y cols., (2003) obtienen recuentos medios  $<1$  log ufc/mL y máximos de 3,56 log ufc/mL. En España, De Garnica y cols., (2011) en leche de tanque de oveja en Castilla y León, muestran resultados medios de 2,63 log ufc/mL (rango=0,70-3,90; CV=25,67%), y Jiménez y cols., (2014), en leche de tanque de oveja Manchega, obtuvieron unos recuentos medios de 2,68 log ufc/mL, y el 69% de las muestras con niveles  $\leq 1.000$  ufc/mL.

A pesar de ser los animales la principal causa de contaminación de *Staphylococcus aureus*, hay factores asociados que pueden afectar el riesgo de contaminación, como unas prácticas higiénicas incorrectas de manejo del personal de la ganadería, el agua, el equipo de ordeño y también, el medioambiente (Jørgensen y cols., 2005).

La estación es un factor de variación muy importante para *Staphylococcus aureus*. De Garnica y cols. (2013d) señalan la alta prevalencia de este microorganismo en invierno y primavera, al comienzo del periodo de lactación comparado con final de lactación. Gonzalo y cols. (2005) indican que para mejorar el estado sanitario del rebaño sería necesario mantener unas estrictas condiciones de higiene. Destacan además la importancia de optimizar los protocolos de uso, limpieza y desinfección de la máquina de ordeño y las rutinas de ordeño para mejorar la salud de la ubre.

Algunas prácticas como la eliminación de animales infectados del rebaño, el establecimiento de un correcto orden de ordeño, la higiene en el ordeño, la realización de un adecuado baño de pezones post-ordeño, o la terapia de secado han demostrado ser efectivos en la prevención de nuevas infecciones intramamarias (Contreras y cols., 2007). Gómez y cols. (1997), en ovejas de raza Manchega, evidenciaron que aplicar las correctas medidas higiénicas y el uso de tratamientos de secado de forma sistemática reducía la incidencia de mamitis del 26 al 8,6%. Por otro lado, también se ha estudiado el uso de vacunas contra *Staphylococcus aureus* por Marco (1994), quien obtuvo una reducción en la prevalencia de mamitis clínica, pero no en la mamitis subclínica.

El grupo de los estafilococos coagulasa negativos (SCN) incluye bacterias residentes de la superficie de la piel y que, de forma oportunista, contaminan la glándula mamaria a través del canal del pezón. La infección que producen más frecuentemente es de naturaleza subclínica, leve y transitoria, con una prevalencia entre el 25% al 93%, según los estudios consultados (Contreras y cols., 1997; Bergonier y cols., 2003a); aunque existen también numerosos casos de mastitis clínica en ovino debido a estos microorganismos (Gelasakis y cols., 2015). De La Cruz y cols. (1994) y Gómez y cols. (1997), en oveja Manchega, señalaron que *Staphylococcus epidermidis* era el microorganismo con mayor prevalencia en casos de mastitis subclínica y que podía producir también mastitis clínica. Además, hay que destacar otras especies como *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus simulans* y *Staphylococcus xylosus* (menos prevalentes son *Staphylococcus auricularis*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus caprae*, etc.).

En ovino lechero se han estudiado dos subgrupos dentro de los SCN: estafilococos coagulasa negativos resistentes a la novobiocina (SCN-NR) y sensibles a la novobiocina (SCN-NS). Provocan distinta respuesta inflamatoria y daño tisular en la glándula mamaria, que se refleja en un mayor/menor contenido en células somáticas en la leche y en la disminución de la producción lechera (Gonzalo y cols., 2002). Así, la infección mamaria causada por los SCN-NR (*Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus sciuri*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus gallinarum*, y

*Staphylococcus lentus*) ocasiona unos recuentos celulares medios a nivel de glándula mamaria de  $200 \times 10^3$  células/mL. Por otro lado, la infección mamaria causada por los SCN-NS (*Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus epidermis*, *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus caprae*) dan lugar a recuentos celulares en la glándula mamaria de más de  $10^6$  células/mL. En ovino lechero, *Staphylococcus simulans* es el SCN que produce mayores incrementos en el recuento de células somáticas, y pueden provocar síntomas clínicos incluso más severos que los patógenos clásicos (Paape y cols., 2001; Ariznabarreta y cols., 2002).

SCN pueden persistir durante largos periodos en diversas localizaciones, como equipos de ordeño por su capacidad de producir biofilms, y poseen una importante capacidad de resistir a los antimicrobianos y de permanecer en las manos de ordeñadores, favoreciendo con ello su difusión (Pilipčincová y cols., 2010).

Jayarao y cols. (2004), en leche de tanque en vacuno, obtuvieron un recuento medio de 2,81 log ufc/mL (en un rango de 0,90 a 4,18 log ufc/mL). En leche de tanque de oveja Manchega, Jiménez y cols. (2014) obtuvieron un valor medio en el recuento de 4,10 log ufc/mL, presentando el 50% de las muestras un recuento inferior a 4,00 log ufc/mL. El incremento en la proporción de SCN respecto a SCP podría deberse a la habilidad que éstos tienen para desarrollarse en los actuales sistemas de producción, tal y como señala Marogna y cols. (2010) para oveja Sarda. Estos autores apuntan que el desarrollo de los SCN se encuentra ligado a los cambios que han experimentado las ganaderías, que han evolucionado de un sistema de producción extensivo a otro más intensificado. Otra explicación para el incremento de los SCN se relaciona con la aplicación de medidas eficaces contra los patógenos principales, que han contribuido al descenso de los SCP, lo cual ha dado lugar a un mayor desarrollo de los SCN (Makovec y Ruegg, 2003; Sampimon y cols., 2004).

#### **d) Coliformes totales (COLIT).**

Se considera dentro del grupo de los coliformes a todo bacilo gram negativo, capaz de desarrollarse en presencia de sales biliares u otros agentes (tensioactivos) que tengan propiedades similares inhibitorias del crecimiento y que sean capaces de fermentar la lactosa a temperaturas de 35 o 37°C, con producción de ácido, gas y aldehído en un lapso de 24 a 48 horas; también son oxidasa negativos, no esporógenos y reducen el nitrato a nitrito. Este grupo comprende, según la clasificación de Clark y Pagel los géneros *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella* y *Enterobacter* pertenecientes a la familia de las enterobacterias (Goez Lopez y cols., 2004).

El recuento de coliformes es un buen indicador de la higiene en el ordeño y diversos autores los han correlacionado con otros grupos microbianos (Jayarao y cols., 2004). Elmosleman y cols. (2009b) identifican que las principales fuentes de contaminación de la leche de tanque de vaca por coliformes son el estiércol, material de las camas, suelo y agua contaminada. De Garnica y cols. (2013c)

corroboran estos términos en ovino lechero, indicando que la contaminación por coliformes obedece más a contaminación ambiental que a infecciones intramamarias.

Farnsworth (1993) clasifica los recuentos de coliformes en vacuno lechero en bajos (<100 ufc/mL), moderados (100-400 ufc/mL), altos (400-700 ufc/mL) y niveles muy altos (>700 ufc/mL). En vacuno los estudios como el de Elmoslemany y cols. (2009a) muestran valores bajos, obteniendo recuentos <50 ufc/mL en el 89% de las muestras. Unos recuentos muy altos normalmente están asociados con un equipo de ordeño muy sucio y en otras ocasiones, por coliformes ambientales que provocan mastitis (Wallace, 2008).

En ovino lechero, es uno de los grupos microbianos que se han incluido en los criterios de algunos sistemas de control de calidad de la leche. Pirisi y cols. (2007) recogen en su publicación los rangos utilizados en Francia, tanto en el área del Roquefort (≤500, 501-2.500 y >2.500 ufc/mL) como en Pirineos Atlánticos (≤500, 501-2.000 y >2.000 ufc/mL), utilizados para clasificar la leche de oveja en base al recuento de coliformes y mesófilos totales (Tabla 2).

**Tabla 2. Sistema de pago por calidad para la leche de oveja en los Pirineos Atlánticos, Francia (Datos del 2005 procedentes del Laboratorio Interprofesional de Ovino Lechero de los Pirineos Atlánticos) (Pirisi y cols., 2007).**

CALIDAD BACTERIOLÓGICA DE LA LECHE				
Coliformes (ufc/mL)	Mesófilos totales (ufc/mL)			
	<100.000	100.001-250.000	>250.000	
≤501-2.000	3	2	1	
501-2.000	2	1	1	
>2.000	1	0	0	
CLASIFICACIÓN	RECOGIDAS MENSUALES			SANCIONES
	3 controles	2 controles	1 control	
A	9-8	6-5	3	ninguna
B	7-5	4	2	-0,0076€
C	4-3	3-2	1	-0,0305€

Gonzalo y cols. (2013), en ovino lechero de Castilla y León, consideran altos los recuentos de coliformes superiores a 3.000 ufc/mL. Jiménez y cols. (2014), en ovino Manchego, muestran recuentos ≤2.500 ufc/mL en un 72,66% de las muestras de leche de tanque, con un valor medio 2,92 log ufc/mL, ligeramente inferior al recuento medio de 3,45 log ufc/mL señalado por De Garnica y cols., (2011) en Castilla y León.

Uno de los principales representantes de este grupo, por su repercusión desde el punto de vista de la Salud Pública, es *Escherichia coli*, patógeno ambiental, aislado en camas y otros materiales que actúan de reservorio, así como en la piel, canal y punta del pezón, desde donde es capaz de acceder

a la glándula mamaria y provocar una infección intramamaria. En vacuno se ha considerado como uno de los patógenos más prevalentes de las infecciones intramamarias (Zadoks y cols., 2001; Contreras y Rodríguez, 2011). Además, es importante desde el punto de vista de la seguridad alimentaria, ya que es un patógeno capaz de producir enfermedades transmitidas a través los alimentos, sobre todo por su capacidad para producir toxinas (Marozzi y cols., 2016). Algunos estudios en ovino en España destacan que el ganado ovino es un portador sano de *Escherichia coli* productor de toxina de Shiga, detectándose en el 68% de los rebaños estudiados, aunque se ha determinado que la mayoría de ellos no albergan los genes de virulencia stx2 y eae (Farrokh y cols., 2013). Amagliani y cols. (2016) aísla *Escherichia coli* O157 en quesos elaborados a partir de leche cruda de oveja. Otros estudios también demuestran la presencia de *Escherichia coli* enteropatógena en leche de tanque de oveja, sugiriendo como fuente de la contaminación el agua suministrada a los animales o utilizada en la limpieza de la maquinaria de ordeño (Otero y cols., 2013).

De Garnica y cols. (2011) señalan recuentos en leche de tanque de oveja de 2,38 ufc/mL, destacando el elevado coeficiente de variación entre los recuentos obtenidos (CV= 44,10). Alexandraki y cols. (2016) señalan también la gran variabilidad entre los valores máximos y mínimos del recuento de ECOLI (1,7 a 4,4 log ufc/mL), que explica por la diversidad en la localización y sistemas productivos de las explotaciones.

#### e) Otros gram-negativos.

En este grupo se incluyen todos los microorganismos gram-negativos que no forman parte del grupo de coliformes, pero que igualmente pueden aislarse de la punta o el canal pezón, de la superficie de las ubres, agua contaminada usada para la limpieza del sistema de ordeño, así como aquellos microorganismos que se hacen resistentes en el sistema de ordeño. Se trata de un grupo muy heterogéneo, formado por especies que pertenecen principalmente a los géneros *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Pasteurella*, *Pseudomonas* y *Xanthobacter* (Jayarao y Wang, 1999).

De entre ellos, los microorganismos del género *Pseudomonas* son los que más se encuentran en leche cruda, y es la principal causa del deterioro de ésta o de la leche pasteurizada y de sus productos derivados, debido principalmente a su capacidad para producir enzimas proteolíticas y lipolíticas termorresistentes (Jayarao y Wang, 1999; Ercolini y cols., 2009). Además, se consideran los microorganismos predominantes en leche almacenada a baja temperatura, llegando a representar entre un 70 y 90% de la población microbiana, y apareciendo en grandes cantidades en muestras con altos recuentos de psicrotrofos ( $4,0 \times 10^5$ - $3,1 \times 10^7$  ufc/mL) (Sorhaug y Stepaniak, 1997; De Almeida y cols., 2017). Se desarrollan rápidamente en el tanque, por su alto grado de adaptabilidad fisiológica y genética, llegando a recuentos de  $10^6$  y  $10^8$  bajo condiciones óptimas y no óptimas, respectivamente, de almacenamiento de la leche, que dan lugar a una disminución de su vida útil, a



la aparición de sabores amargos y/o rancios y a la alteración de las propiedades de coagulación de la leche (Spier y cols., 2000; Richter y Vedamuthu, 2001; De Jonghe y cols., 2011). En cuanto a las especies de *Pseudomonas* que se han detectado con mayor frecuencia en leche y quesos han sido *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas gessardii*, *Pseudomonas fragi*, *Pseudomonas lundensis* y *Pseudomonas aeruginosa* (Arslan y cols., 2011; Meng y cols., 2017). *Pseudomonas aeruginosa*, se considera además un patógeno oportunista, que ha sido aislado ocasionalmente en casos de mamitis en pequeños rumiantes (Bergonier y cols., 2003a; Contreras y cols., 2007).

Los estudios realizados en leche de tanque de vacuno muestran recuentos de *Pseudomonas spp.* en rangos entre  $2,3 \times 10^5$  a  $1,7 \times 10^6$  ufc/mL, y de *Pseudomonas fluorescens* entre  $6,2 \times 10^2$  a  $8,4 \times 10^4$  ufc/mL, en muestras con altos recuentos de psicrotrofos ( $4,0 \times 10^5$ - $3,1 \times 10^7$  ufc/mL) (De Almeida y cols., 2017). Estos recuentos evidencian la falta de implementación de buenas prácticas higiénicas en el ordeño, así como una pobre calidad del agua utilizada en distintos puntos de la ganadería (Fagundes y cols., 2006).

Faccia y cols. (2015), en un estudio realizado en Italia, registraron recuentos de *Pseudomonas spp.* en leche y queso de 3,65 y 3,79 log ufc/mL, respectivamente. Estos autores señalan la importancia de controlar el crecimiento de estos microorganismos para evitar importantes alteraciones cualitativas de los productos.

#### **f) Esporas butíricas (BAB).**

Las bacterias del género *Clostridium* son bacilos gram positivos, anaerobios obligados o aerotolerantes, habitualmente móviles por la presencia de flagelos peritricos. La forma de las células vegetativas puede variar desde bacilos cortos a largos y filamentosos. En general se desarrollan a pH en torno a la neutralidad, con un rango de pH óptimo entre 6,8 y 7,0 (Furtado 1990), por lo que son inactivadas a pH ácido o básico, como el ácido gástrico, el ácido de productos limpiadores desinfectantes (por ejemplo, el cloro), e incluso el pH de los ácidos orgánicos. Su rango de temperatura ideal es de 32 a 37°C (Furtado, 1990). Un aspecto determinante es su capacidad para la formación de endosporas termorresistentes (Vissers y cols., 2006; Julien y cols., 2008) y resistentes a numerosos agentes químicos (Moir 2006; Plomp y cols., 2007). Las esporas tienen una forma ovoide o esférica, tienden a deformar el cuerpo bacilar y su posición (terminal-subterminal) constituye un carácter taxonómico importante.

Se encuentran ampliamente distribuidas por el medio y en numerosos hábitats, principalmente suelo, plantas, ensilados, así como en sedimentos marinos y animales (Colombari y cols., 2005; Julien y cols., 2008). Su amplia presencia se debe a su capacidad para producir esporas de resistencia, que les permite sobrevivir en la leche y desarrollarse posteriormente en el queso, cuando las condiciones de temperatura, nutrientes y ausencia de oxígeno les son favorables (Setlow, 2003), dando lugar a formas vegetativas que se multiplican, fermentan el lactato y producen finalmente ácido butírico. El



control de la contaminación de la leche con organismos esporulados generadores de gas butírico resulta importante para la industria láctea en relación al defecto de hinchazón tardía en quesos, sobre todo en quesos de pasta dura y semidura (Thomas y cols., 2012).

Las especies del género *Clostridium* más aisladas en leche y productos lácteos son *C. tyrobutyricum*, *C. butyricum*, *C. beijerinckii*, *C. sporogenes*, *C. perfringens*, *C. tetanomorphum* y *C. bifermentan*, siendo el *C. sporogenes* la especie más frecuente encontrada en leche y queso (Garde y cols., 2011; Le Bourhis y cols., 2005, 2007; Arias y cols., 2013).

Los estudios realizados en leche de tanque de ganaderías de oveja Manchega señalan recuentos medios de esporas de 3,29 logNMP/L (Arias y cols., 2013). Recuentos superiores (4,16 y 4,13 logNMP/L, respectivamente), han sido citados por Garde y cols. (2011) y Salmeron y cols. (2002), al analizar leche para elaboración de queso Manchego e Idiazábal, respectivamente. En todos los casos se supera el límite de 1 espora/mL establecido como umbral de penalización en algunos sistemas de pago de calidad de la leche que aplican este criterio (Pirisi y cols., 2007).

Arias y cols., (2013, 2016), evidenciaron que los principales factores de riesgo que condicionaban la contaminación butírica en leche de oveja eran el tipo de mezcla unifeed y su conservación, la adición de ensilado y cebadilla a la ración, la higiene del alojamiento y de la sala de ordeño, la acumulación de polvo y el estado de la cama. Estos autores concluyen que la reducción de la contaminación por esporas butíricas de la leche en las explotaciones se conseguiría con sistemas de alimentación que controlen el uso de alimentos húmedos, e implantando buenas prácticas para la elaboración de mezclas unifeed en las ganaderías. Además, el mantenimiento de unas adecuadas prácticas higiénicas en el alojamiento y en la sala de ordeño también repercutiría en la disminución de esporas butíricas y en la calidad integral de la leche de oveja.

### 2.3.2. RECUENTO DE CÉLULAS SOMÁTICAS (RCS).

Las células somáticas que se encuentran en la leche de los rumiantes están integradas por una variedad de células, entre las que se incluyen los leucocitos polimorfonucleares neutrófilos (PMN), macrófagos, linfocitos, eosinófilos y células epiteliales de la glándula mamaria. Las células que se aíslan en leche procedente de una ubre sana son principalmente células del epitelio y de los conductos de drenaje mamario (Riggio y cols., 2015).

En caso de una infección intramamaria (IMI) se desencadena un mecanismo de quimiotaxis y diapédesis, mediante el cual los neutrófilos afluyen a la leche como respuesta a estímulos químicos mediados por la liberación de citoquinas de macrófagos, así como por la presencia de toxinas bacterianas y otros productos resultantes de la reacción inflamatoria (Gonzalo y cols., 1998; Paape y Contreras, 2000). Los leucocitos se adhieren a la pared del vaso y llegan al espacio tisular que rodea a los alveolos. Cuando las células secretoras mamarias mueren, se desprenden de la membrana basal

que rodea al alvéolo, dejando un espacio para que las células sanguíneas y otros componentes sanguíneos (seroalbúmina, proteínas séricas, iones sodio y cloro) fluyan desde el espacio tisular perialveolar hasta la leche alveolar, produciéndose así el paso de lactosa a la sangre (Heald, 1985; Stelwagen y cols., 1994). Además, una relación alta Na/K en leche se asocia con los mecanismos que reducen la producción de leche debido al aumento de la permeabilidad de las uniones de lactocitos (Allen, 1990).

El recuento de células somáticas (RCS) es considerado como un buen indicador de IMI, ya que refleja el número de neutrófilos que migran desde la sangre hasta la glándula mamaria en respuesta a una infección. Bergonier y cols (2003b) lo consideran un índice generalmente asociado a la instauración de una inflamación mamaria y por ello es utilizado de forma rutinaria en los sistemas de control de la calidad de leche de ovino, al igual que ocurre en el vacuno (Serieys y cols., 1985), tanto a nivel individual en el marco del control lechero, como a nivel de leche de tanque (Lagriffoul y cols., 1999a; Schukken y cols., 2003). El RCS es considerado un buen método indirecto, sensible y específico, para el diagnóstico del estado sanitario de la ubre, que permitirá estimar las pérdidas de potencial lechero provocadas por las mastitis subclínicas (Gonzalo y cols., 1998). Sin embargo, la interpretación de los resultados analíticos de la leche en cuanto a su RCS es muy complicada, siendo necesario tener en cuenta tanto los distintos tipos celulares presentes, el método analítico y tipo de muestra, el germen responsable de la infección, así como, en particular, los distintos factores no infecciosos implicados en su variación (Arias, 2009).

El recuento de células somáticas de la leche de tanque (RCST) es ampliamente utilizado actualmente por los sistemas de control de calidad de la leche, para evaluar el estado higiénico-sanitario del rebaño. Sin embargo, la legislación de la Unión Europea (Reglamento (CE) nº 853/2004) no establece un límite en la leche de pequeños rumiantes, tal como lo hace en vacuno, y son habitualmente fijados por la industria en los contratos que establece con los ganaderos. Ariznabarreta (1999) clasificó las explotaciones en función del recuento celular de la leche de tanque, relacionándolo con la prevalencia de mastitis subclínica (**Tabla 3**). Así considera un rebaño con buen estado sanitario cuando obtiene valores de  $RCST < 500.000$  cel/mL, estimando una prevalencia de infecciones intramamarias subclínicas de un 15% en glándulas mamarias y un 30% de ovejas, mientras que un rebaño sería considerado con un deficiente estado sanitario cuando el  $RCST > 10^6$  cel/mL, que estaría relacionado con una prevalencia del 30% en glándulas y un 45% en ovejas afectadas. Arias (2009) cifra en un 39% las ganaderías de raza Manchega en control lechero con  $RCST > 10^6$  cel/mL, porcentaje superior al 27% citado por Ramón y cols. (2004) en el periodo 1999-2003.

Arias y cols. (2011), estima con los RCST el porcentaje de ovejas con recuentos individuales que indicarían una posible mastitis subclínica. Este estudio indica que con un  $RCST = 10^6$  cel/mL el

porcentaje de ovejas con un recuento individual superior a 500.000 cel/mL se encuentra entre el 26,49-39,44%.

**Tabla 3. Prevalencia de infecciones intramamarias en función del RCST (Ariznabarreta, 1999).**

ESTADO SANITARIO	RCS ( $\times 10^3$ / ml)	PREVALENCIA DE MAMITIS (%)	
		POR GLÁNDULA	POR OVEJA
Bueno	<500	15	30
Mediocre	500-1.000	25	40
Malo	>1.000	30	45

Gonzalo y cols. (2005) evidenciaron que la repetibilidad del RCST era relativamente alta (0,58), ligada por un lado al alto porcentaje del factor rebaño (48,40%), así como al número de observaciones efectuadas a lo largo del año. Estos autores consideran que esta repetibilidad indicaría que el RCST es un parámetro adecuado para la monitorización de la salud de la ubre y como criterio de pago por calidad en la leche de oveja.

Se han descrito diversos factores de variación del recuento de células somáticas en leche de rumiantes. Se ha demostrado que el principal factor es el infeccioso, existiendo una alta correlación no sólo con el recuento de células a nivel del animal y la glándula mamaria, sino también a nivel de la leche de tanque (Leitner y cols., 2016). No obstante, existen otros factores que pueden provocar una variación en el recuento de células somáticas: rebaño, estado de lactación, número de lactación, tipo de parto y las interacciones entre ellos (Ariznabarreta y cols., 2002; Arias y cols., 2012).

La respuesta inflamatoria que se produce es diferente para cada tipo de bacteria, y ésta influye de forma diferente sobre los constituyentes de la leche (incluyendo caseínas o enzimas, como la plasmina) (Larsen y cols., 2004; Leitner y cols., 2006). Ariznabarreta y cols. (2002), señalaron que los (SCN-NR), micrococos y las corynebacterias se asociaban a bajos recuentos de células somáticas ( $\log\text{RCST}=4,85\text{-}5,20$  cel/mL), mientras que la presencia de una infección de la glándula a partir de (SCN-NS), estreptococos y enterococos se relacionaba con una respuesta inflamatoria aguda que daba lugar a unos recuentos superiores ( $\log\text{RCST}=5,92\text{-}6,32$  cel/mL). Asimismo, Gonzalo y cols. (2002) muestran que los mayores recuentos celulares son provocados por infecciones de *Streptococcus agalactiae*, *Pasteurella spp* o *Staphylococcus aureus*.

Por otro lado, se han descrito factores no infecciosos como causa de variación del recuento de células somáticas. Uno de los más importantes es el factor rebaño, como conjunto de diversos factores higiénico-sanitarios, ambientales, de alimentación y manejo, así como el nivel genético de los animales (Gonzalo y cols., 1994; Arias y cols., 2012). Este efecto también se ha demostrado en leche de tanque, debido al efecto aditivo que provoca la presencia de recuentos celulares altos de ovejas individuales, sin que por ello presenten signos clínicos de mastitis (Gonzalo y Gaudioso, 1983;

Gonzalo y cols., 1994). Ramón y cols. (2004) y Arias (2009), en raza Manchega, muestran al rebaño como el factor no infeccioso que mayor porcentaje de varianza explica del RCST, con un 26,40% y 56,15%, respectivamente. De entre todos los elementos que condicionan el factor rebaño cabe citar por su importancia la alimentación y el tipo de ordeño. La relación entre la alimentación y el recuento de células somáticas ha sido poco estudiada en pequeños rumiantes, admitiéndose que las deficiencias nutricionales podrían aumentar la susceptibilidad a las infecciones intramamarias (Pulina y cols., 2006). En cuanto al ordeño, se han señalado diferencias en el recuento celular en función de los parámetros de funcionamiento del ordeño mecánico, relacionándose sobre todo con el nivel de vacío y el número de pulsaciones (Díaz, 2000; Gonzalo y cols., 2005), detectando altos RCS en ovejas ordeñadas a 42 vs 36 kPa ó a 120 vs 180 pulsaciones por minuto, siendo importante una adecuada regulación y mantenimiento de la sala de ordeño. Hay que destacar la importancia que tienen las medidas higiénico-sanitarias del rebaño, sobre todo la aplicación de tratamientos de secado, logrando una disminución no sólo de la prevalencia de la infección sino también del recuento celular, aumentando la producción de leche (Gonzalo y cols., 2009).

Otro factor a considerar es el estado de lactación, produciéndose un incremento en el recuento de células somáticas conforme avanza la lactación, siendo su evolución inversa a la curva de producción de leche (Antunac y cols., 2007; Arias y cols., 2012). El recuento celular de la leche de tanque también varía en función de la época del año, en buena parte condicionada por el estado de las lactaciones a lo largo del año. Gonzalo y cols. (2005) indican que, para el RCST, el factor mes asociado al rebaño representa el 16% del total de la variación, que podría explicarse según las diferentes prevalencias de las infecciones intramamarias a lo largo del año en cada rebaño, aunque también puede deberse al estado de lactación y manejo reproductivo de los rebaños. Arias (2009) destaca las diferencias entre el comportamiento estacional de los RCST de los rebaños en control lechero de la raza Manchega y de la totalidad de ganaderías de Castilla-La Mancha estudiadas. Así, mientras que los mayores RCST de raza Manchega en control lechero se obtienen en invierno, en la totalidad de rebaños de Castilla-La Mancha los valores máximos se observan en verano y otoño, y el valor mínimo en primavera e invierno, como también indicaban Gonzalo (1996) y De Garnica y cols. (2013b) en Castilla y León. Estas diferencias demostrarían que la producción de leche de raza Manchega presenta una influencia de la estacionalidad diferente y menos acusada que en otras razas y zonas de producción.

Diversos autores han estudiado la influencia de las infecciones intramamarias y del recuento de células somáticas sobre la producción y calidad de la leche, siendo los más importantes la disminución de la producción lechera, y la variación de su composición y del rendimiento quesero, especialmente por el aumento de la actividad proteolítica (Raynal-Ljutovac y cols., 2007).

Una de las consecuencias directas de la instauración de las infecciones intramamarias en ovino es la reducción de la producción lechera (Martí, 2005). En oveja Manchega, se ha señalado una pérdida del potencial productivo entre el 15-20%, en caso de infecciones intramamarias subclínicas con recuentos celulares del orden de  $3.500 \times 10^3$  cel/mL (Peris y cols., 1996). Asimismo se han descrito, también en esta raza, pérdidas de producción de leche de aproximadamente un 10% con recuentos celulares de leche de tanque de  $10^6$  cel/ml (Arias y cols. 2015).

El estudio de las correlaciones fenotípicas entre el recuento de células somáticas y la producción de leche demuestra el antagonismo entre ambos parámetros. Serrano y cols. (2003) señalaron las correlaciones negativas entre el recuento celular y la producción de leche en primera, segunda y tercera lactación (-0,08, -0,14 y -0,15, respectivamente). Parece existir una relación más estrecha entre ambas variables conforme avanza la edad de la oveja, lo cual se ha asociado a una mayor incidencia de infecciones intramamarias subclínicas. Además, en aquellos rebaños con deficientes condiciones sanitarias y mayor prevalencia de infecciones intramamarias se obtienen valores de correlación entre el recuento celular y la producción de leche más elevados si se comparan con ganaderías en las que existe menor prevalencia de infección (Carriedo y cols., 1988). Asimismo, Arias (2009), también en raza Manchega, señalaron que conforme avanza la lactación, las correlaciones entre el recuento celular y la producción de leche aumentan, entre -0,09 y -0,15. Es decir, la pérdida de producción de leche como consecuencia de una IMI se hace más evidente al final de la lactación.

Las células somáticas también están relacionadas con la calidad de la leche y, como consecuencia, con los parámetros de coagulación de la leche (Sevi y cols., 2000). En leche de ovejas con altos recuentos celulares se produce un aumento de la actividad proteolítica, lo que reduce el rendimiento y la calidad del queso (Leitner y cols., 2004). Las células somáticas en la leche contienen lisosomas que liberan enzimas proteolíticas, como elastasa, colagenasa, proteasas y catepsinas (Kelly y MacSweeney, 2003), que junto a la plasmina escinden las caseínas de la leche (Le Roux, 1994). Además, hay que destacar que la leche con altos RCS tiene un pH más elevado, lo que repercute directamente en la aptitud de la leche para la coagulación y producción de queso, mientras que la mayoría de los estudios no muestran un efecto determinante sobre los sólidos totales (Arias, 2009).

El aumento del recuento celular y su relación con el contenido proteico plantea discrepancias entre los estudios realizados (Raynal-Ljutovac, 2007; Arias, 2009). Estas pueden ser debidas a muchos factores que afectan al contenido en proteína y al recuento celular en leche, como por ejemplo la disminución de la producción de leche cuando avanza la lactación, o por el aumento de proteínas séricas cuando aumenta el recuento celular (Auldist y cols., 1996). Albenzio y cols., (2005) no encuentran variación en la proteína total durante la lactación en ovejas con altos recuentos, mientras que el contenido en caseínas disminuía un 19 y 17% a mitad y final de lactación, respectivamente, debido al aumento de proteínas séricas que compensarían la disminución de caseínas y demostraría

por qué no varía la proteína total. Este autor también destaca una disminución en la relación caseínas/proteína bruta, significativa a mitad y final de lactación, con una disminución del 17% y 19%, respectivamente, entre leche de ovejas con  $RCS < 500.000$  cel/mL y aquellas con  $RCS > 10^6$  cel/mL. En leche de tanque de oveja Manchega, Arias (2009) señala que el porcentaje de proteína bruta presenta valores medios idénticos para los rangos extremos de recuento celular ( $\log RCST = 5,91\%$ ). El porcentaje de proteína bruta se recuperaría en el rango  $RCST > 10^6$  cel/mL a expensas de un mayor contenido en proteínas séricas que afluyen desde la sangre a la leche de ubres con mamitis subclínicas. Martí-de Olives y cols. (2015) señalan además un aumento de la proteólisis al incrementar el recuento de células somáticas en leche de tanque, con un descenso del contenido en  $\beta$ -caseínas y un incremento de  $\gamma$ -caseínas conforme se incrementa el recuento desde las 500.000 cel/mL.

También existe controversia respecto al efecto sobre el contenido en grasa de la leche con altos recuentos celulares. Distintos autores reflejan que no existe efecto significativo en el contenido en grasa (Martí, 2005; Vivar-Quintana, 2006). Sin embargo, Sevi y cols. (1999a) indican una cierta reducción de su contenido. Arias (2009) señala que el porcentaje en grasa experimenta un aumento significativo entre los rangos  $RCST < 500.000$  cel/mL y  $RCST > 10^6$  cel/mL, que se cifra en un 3,5 %, probablemente debido a un efecto de concentración de grasa en los menores volúmenes de leche producida en circunstancias de IMI.

En cuanto al contenido en lactosa, sí que existe una disminución significativa del contenido cuando aumentan los recuentos celulares. Pirisi y cols., (2000a) citan una disminución del 8% entre  $RCST < 500.000$  cel/mL y  $RCST > 10^6$  y Vivar-Quintana (2006) hasta un 16% entre  $RCST < 500.000$  cel/mL y  $RCST > 3 \times 10^6$  cel/mL. Arias (2009), en leche de tanque de oveja en Castilla-La Mancha, indica una reducción del 4,55 % en el contenido de lactosa cuando  $RCST > 10^6$  cel/mL.

#### **2.4. CARACTERÍSTICAS DE COAGULACIÓN DE LA LECHE.**

La calidad tecnológica de la leche se define como la aptitud global que presenta la leche para la obtención de queso, bajo determinadas condiciones de trabajo y rendimiento satisfactorio, evaluándose para ello el comportamiento que presenta la leche frente al cuajo (Lenoir y Schneid, 1990).

El proceso de coagulación de la leche para la formación de queso está constituido por dos fases. La primera fase es la hidrólisis enzimática, durante la cual las enzimas proteolíticas del cuajo, principalmente quimosina, hidroliza la  $\kappa$ -caseína en el enlace Phe105-Met106. Cuando esto sucede, el C-terminal hidrofóbico del caseinomacropéptido ( $\kappa$ -caseína f106-169) se separa de la  $\kappa$ -caseína (la cual se encuentra localizada en la superficie de las micelas de caseína y es un factor esencial para su estabilidad), difunde al medio acuoso y se pierde en el suero. La segunda fase o fase no enzimática,

da lugar a la agregación de las micelas y la coagulación de la leche en presencia de una concentración crítica de  $\text{Ca}^{2+}$ , a temperaturas superiores a 20° (Fox, 1993).

La otra etapa transcendente en la elaboración del queso es la sinéresis, definido como el proceso por el cual la cuajada, obtenida por coagulación enzimática y mantenida en reposo, se concentra por eliminación de agua y constituyentes solubles. Así, después de un tiempo variable, en la superficie del coágulo se puede observar una exudación espontánea de lactosuero, en forma de gotas pequeñas. Estas gotas van aumentando su tamaño, uniéndose unas a otras y constituyendo, finalmente, una envuelta líquida alrededor del coágulo el cual, al mismo tiempo, disminuye el volumen. Hasta aquí se produce lo que se conoce como sinéresis espontánea, durante la cual se produce la contracción de un gel sin la aplicación de alguna fuerza externa, sino la relativa a la inestabilidad de la red que conforma el gel, resultando en la pérdida de habilidad para atrapar o contener todo el suero (Walstra, 1993).

La última etapa de la fabricación quesera ocurre cuando el lactosuero, expulsado por sinéresis, debe ser separado de la cuajada mediante medios mecánicos (cortado, decantación y filtrado de la cuajada, salado y oreado), operaciones que en conjunto reciben el nombre de desuerado (Eck, 1990).

Entre los factores más importantes que afectan a la coagulación destacan los referidos a la composición de la leche (en particular su contenido en proteínas y grasa), el estado de lactación, la calidad higiénico-sanitaria, etc. (Sbodio y cols., 2012). Además, existen otros factores que caracterizan el proceso y afectan a la coagulación por quimosina de la leche: temperatura y pH de la coagulación, concentración enzimática, concentración de cloruro cálcico y la dimensión de las micelas de caseína (Castillo, 2001; Sbodio y cols., 1997, 2002). La aplicación de un tratamiento térmico inadecuado, generalmente asociado a una pasteurización por encima de los 70 °C, trae asociado una desnaturalización de las proteínas solubles ( $\beta$ -lactoglobulinas y  $\alpha$ -lactoalbúmina, principalmente), que se unen a la superficie de la micela y dan lugar a una inapropiada agregación, así como cambios en la distribución del calcio entre las micelas y el suero. Sin embargo, un tratamiento térmico adecuado ofrece importantes ventajas, como el aumento del rendimiento y el valor nutritivo del queso (Sbodio y cols., 2012). Además, es frecuente la adición antes de la coagulación de cloruro cálcico ( $\text{CaCl}_2$ ), que afecta indirectamente a la fase enzimática de la coagulación produciendo un descenso del pH de la leche, favoreciendo por tanto el proceso de agregación de las micelas (Castillo, 2003).

Es importante señalar también que el tiempo de corte de la cuajada va a depender de las propiedades reológicas de la microestructura del gel, así como de la dureza del coágulo y de la capacidad de reestructuración que, a su vez, depende de la composición y tratamiento previo de la leche (Jiménez-Márquez y cols., 2005; Rovira y cols., 2013). Si el corte de la cuajada es prematuro, cuando ésta es excesivamente frágil, dará lugar a una pérdida de rendimiento por aumento de finos y de grasa en el



suero. Por otro lado, si el corte es tardío, se produce un aumento de la humedad de la cuajada y una disminución de la calidad (Payne y cols., 1993; Castillo 2001; Rovira y cols., 2013). Así, el control de la sinéresis y especialmente la intensidad y velocidad del desuerado influyen directamente sobre la humedad del queso, afectando a las propiedades químicas, reológicas y organolépticas del mismo (Castillo y cols., 2000).

#### 2.4.1. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS TECNOLÓGICAS DE LA LECHE.

La capacidad de coagulación de la leche está muy relacionada con la calidad del producto final y con su rendimiento, por lo que la industria requiere del desarrollo de mecanismos de control para monitorizar el proceso de forma objetiva.

Existen numerosos instrumentos para evaluar la coagulación de la leche y entre ellos se encuentran los sistemas mecánicos, basados bien en el principio de la fuerza de arrastre o de la fuerza de torsión/rotación. Otros sistemas utilizados son los vibracionales, de ultrasonidos, ópticos, los basados en medir la conductividad eléctrica o los de dispersión de la luz dinámica (O' Callaghan y cols., 2002).

Uno de los sistemas más utilizados para evaluar la coagulación de la leche es el viscosímetro de torsión tipo tromboelastógrafo o lactodinamógrafo. Su funcionamiento se basa en el principio de la fuerza de arrastre y registra los parámetros de coagulación a partir de los cambios físico-químicos que ocurren durante la formación de la cuajada (O' Callaghan y cols., 2002). Los parámetros que miden las características del coágulo fueron definidos por McMahon y Brown (1982), a partir de la curva característica que el viscosímetro registra tras el procesamiento de cada muestra (Figura 3). El aparato está formado por unos péndulos circulares que se encuentran inmersos en la muestra de leche adicionada con cuajo. Mientras la leche se encuentra en estado líquido, el aparato registra una línea vertical; al dar comienzo la coagulación y debido al incremento de la viscosidad de la leche, se registran unos puntos laterales que formarán el típico gráfico de coagulación en forma de campana.

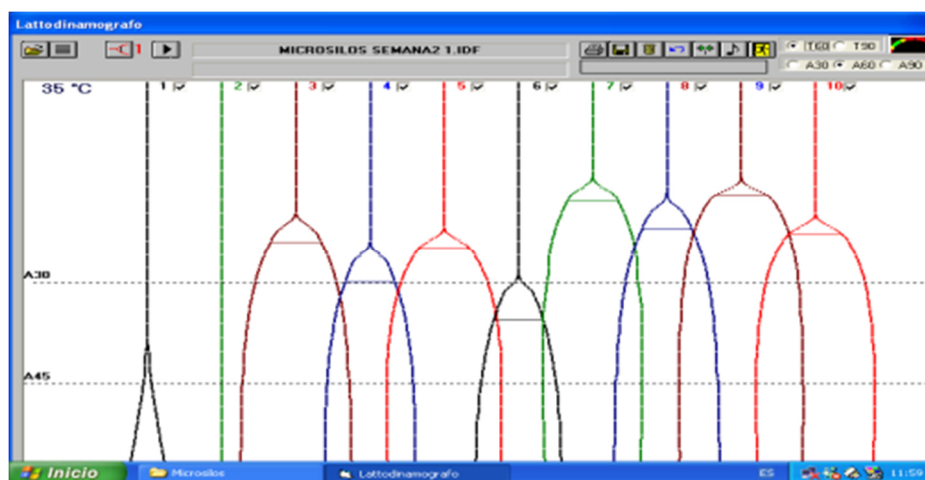


Figura 3. Diagrama de coagulación de diferentes muestras de leche obtenidas con Formagraph.



El proceso de coagulación se puede dividir a efectos explicativos en dos fases. La primera fase se describe por un parámetro denominado **tiempo de coagulación (RCT)**, y se define como el tiempo que transcurre desde la adición del cuajo a la leche hasta el comienzo de la coagulación. Se determina midiendo la distancia desde el origen del análisis hasta el punto donde la curva comienza a abrirse (1 milímetro de apertura), expresándose el resultado en minutos. La segunda fase se analiza mediante varios parámetros (**Figura 4**):

- ☞ **K<sub>20</sub>: velocidad de endurecimiento de la cuajada**, que es la distancia medida entre el inicio de la coagulación y el punto donde la campana presenta una amplitud de 20 milímetros. El resultado se expresa en minutos.
- ☞ **A<sub>30</sub> y A<sub>60</sub>: Dureza del coágulo a los 30 (dureza media) y a los 60 minutos (dureza máxima)**, que se expresan en milímetros, según la amplitud que presente la campana en esa línea.

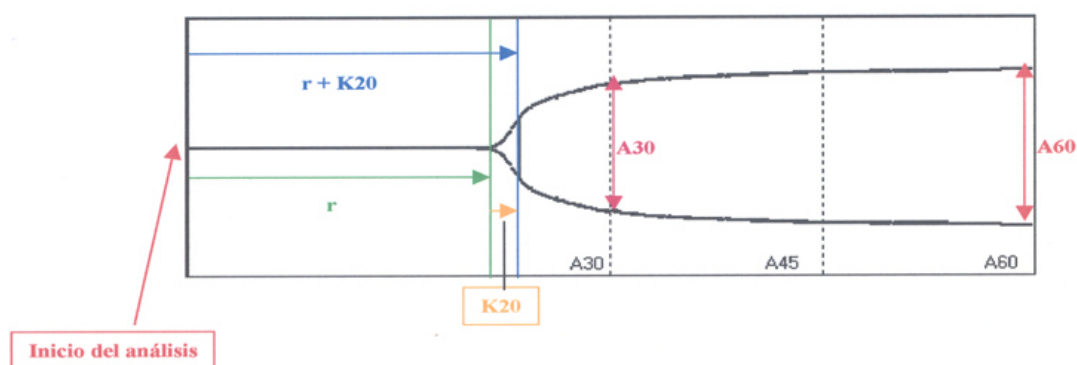


Figura 4. Diagrama de los parámetros de coagulación de la leche.

Una leche se considera que tiene una buena aptitud quesera cuando presenta un tiempo de coagulación y de endurecimiento de la cuajada bajo, ya que se minimiza la pérdida de sólidos en el desuerado (McMahon y Brown, 1984), presentando por ello una mayor dureza media y máxima. Valores bajos de la relación  $RCT/A_{30}$  indican leches con una rápida coagulación y una gran dureza de la cuajada, mientras que valores altos son de leches que coagulan más lentamente, lo que provoca el incremento de pérdidas de grasa en el desuerado. El sumatorio de  $RCT+K_{20}$  se utiliza cuando los valores de  $K_{20}$  son pequeños, e indica la velocidad de endurecimiento de la cuajada desde el inicio del análisis (Figueroa, 2015).

Existe una gran disparidad en los resultados de los parámetros tecnológicos de la leche en los diferentes estudios revisados (Tablas 4 y 5). Autores como Pazzola y cols. (2014) o Bencini (2002) señalan que las diferencias pueden ser debidas a las diferentes condiciones experimentales de cada ensayo: temperatura y pH de la leche, grado de acidez, la composición y cantidad de cuajo utilizada en cada uno de ellos, así como diferencias entre razas y rebaños, que podrían condicionar la composición físico-química de la leche, particularmente del contenido en grasa y proteína. Este último factor también lo contemplan los estudios de Guinee y cols. (2007), en vacuno lechero, y Milan

y cols. (2011), en ovino lechero Assaf en España, en los que se observa una disminución del rendimiento quesero debido al incremento cuantitativo de la producción de leche y a la consecuente reducción en grasa y proteína.

**Tabla 4. Valores del tiempo de coagulación (RCT) y de la velocidad de endurecimiento ( $K_{20}$ ) de la cuajada de la leche de diversas especies y razas rumiantes.**

PARAMETROS <sup>1</sup>	ESPECIE	TIPO DE MUESTRA	RAZA	VALORES	REFERENCIA
RCT	vaca	individual	Holstein-Frisona	16,90	Cecchinato y cols. (2011)
	vaca	individual	Pardo-Suiza	15,00	Cecchinato y cols. (2011)
	vaca	individual	Pardo-Suiza	19,95	Cipolat-Gotet y cols. (2012), Cecchinato y cols. (2013)
	vaca	tanque	Italianas	18,49	Malacarne y cols. (2006)
	vaca	tanque	Italianas	23,39	Benedet y cols. (2018)
	cabra	individual	Italianas	13,20	Vacca y cols. (2018)
	oveja	individual	Manchega	39,33	Garzón (1996)
	oveja	individual	Manchega	35,38	Caballero-Villalobos y cols. (2018a)
	oveja	individual	Manchega	18,90	Caballero-Villalobos y cols. (2018b)
	oveja	individual	Assaf	29,83	Caballero-Villalobos y cols. (2018a)
	oveja	individual	Sarda	8,62	Pazzola y cols. (2014)
	oveja	individual	Sarda	13,39	Manca y cols. (2016)
	oveja	individual	Sarda	8,90	Ferragina y cols. (2017)
	oveja	individual	Sarda	15,18	Puledda y cols. (2017)
	oveja	tanque	Valle Belice: cruces Pinzirita, Comisana y Sarda	21,83	Todaro y cols. (2014)
	oveja	tanque	Assaf Española	22,91	Cerrato-Nutecal (2015)
	oveja	tanque	Comisana+Sarda	14,43	Manuelian y cols. (2019)
	oveja	tanque	Comisana+Sarda	4,50	Duranti y cols. (2003)
$K_{20}$	vaca	individual	Pardo-Suiza	5,36	Cipolat-Gotet y cols. (2012), Cecchinato y cols. (2013)
	vaca	tanque	Italianas	8,29	Malacarne y cols. (2006)
	vaca	tanque	Italianas	7,17	Benedet y cols. (2018)
	cabra	individual	Italianas	4,50	Vacca y cols. (2018)
	oveja	individual	Manchega	2,47	Garzón (1996)
	oveja	individual	Manchega	3,48	Caballero-Villalobos y cols. (2018a)
	oveja	individual	Assaf	7,22	Caballero-Villalobos y cols. (2018a)
	oveja	individual	Sarda	1,93	Pazzola y cols. (2014)
	oveja	individual	Sarda	1,75	Manca y cols. (2016)
	oveja	individual	Sarda	1,90	Ferragina y cols. (2017)
	oveja	individual	Sarda	1,75	Puledda y cols. (2017)
	oveja	tanque	Valle Belice: cruces Pinzirita, Comisana y Sarda	1,86	Todaro y cols. (2014)
	oveja	tanque	Assaf Española	4,50	Cerrato-Nutecal (2015)
	oveja	tanque	Comisana+Sarda	2,26	Manuelian y cols. (2019)
	oveja	tanque	Comisana+Sarda	2,94	Duranti y cols. (2003)

<sup>1</sup>RCT= tiempo de coagulación y  $K_{20}$ = velocidad de endurecimiento de la cuajada (minutos).

**Tabla 5. Valores de dureza del coágulo a los 30 minutos ( $A_{30}$ ), dureza del coágulo a los 60 minutos ( $A_{60}$ ) y del rendimiento de la cuajada (RCUA) de la leche de diversas especies y razas rumiantes.**

PARAMETROS <sup>1</sup>	ESPECIE	TIPO DE MUESTRA	RAZA	VALORES	REFERENCIA
<b><math>A_{30}</math></b>	vaca	individual	Holstein-Frisona	32,00	Cecchinato y cols. (2011)
	vaca	individual	Pardo-Suiza	41,70	Cecchinato y cols. (2011)
	vaca	individual	Pardo-Suiza	30,09	Cipolat-Gotet y cols. (2012), Cecchinato y cols. (2013)
	vaca	tanque	Italianas	27,78	Malacarne y cols. (2006)
	vaca	tanque	Italianas	11,51	Benedet y cols. (2018)
	cabra	individual	Italianas	36,00	Vacca y cols. (2018)
	oveja	individual	Manchega	27,95	Garzón, 1996
	oveja	individual	Manchega	34,08	Caballero-Villalobos y cols. (2018b)
	oveja	individual	Sarda	50,21	Pazzola y cols. (2014)
	oveja	individual	Sarda	54,99	Manca y cols. (2016)
	oveja	individual	Sarda	50,20	Ferragina y cols (2017)
	oveja	individual	Sarda	52,63	Puleda y cols. (2017)
	oveja	tanque	Valle Belice: cruces Pinzirita, Comisana y Sarda	31,46	Todaro y cols. (2014)
	oveja	tanque	Assaf Española	16,14	Cerrato-Nutecal (2015)
	oveja	tanque	Comisana+Sarda	49,54	Manuelian y cols. (2019)
	oveja	tanque	Comisana+Sarda	35,76	Duranti y cols. (2003)
<b><math>A_{60}</math></b>	vaca	individual	Varias razas	53,6	Bobbo y cols.(2017)
	vaca	tanque	Frisona-Jersey	51,45	Auldist y cols. (2004)
	cabra	individual	Italianas	27,80	Vacca y cols. (2018)
	oveja	individual	Manchega	59,13	Garzón, 1996
	oveja	individual	Manchega	62,54	Caballero-Villalobos y cols. (2018a)
	oveja	individual	Assaf	41,88	Caballero-Villalobos y cols. (2018a)
	oveja	individual	Sarda	42,30	Ferragina y cols (2017)
	oveja	individual	Sarda	42,18	Pazzola y cols. (2014)
	oveja	tanque	Assaf Española	35,23	Cerrato-Nutecal (2015)
	oveja	tanque	Assaf Española	35,23	Cerrato-Nutecal (2015)
<b>RCUA</b>	vaca	tanque	Frisona italiana	7,93	Auldist y cols. (2004)
			Parda italiana	8,92	
			Frisona-Jersey	11,4	
	vaca	tanque	Italianas	8,43	Malacarne y cols. (2006)
	oveja	individual	Manchega	332,36	Garzón, 1996
	oveja	individual	Manchega	3,25	Caballero-Villalobos y cols. (2018a)
	oveja	individual	Assaf	2,66	Caballero-Villalobos y cols. (2018a)
	oveja	tanque	Assaf Española	2,64	Cerrato-Nutecal (2015)

<sup>1</sup> $A_{30}$ = dureza del coágulo a los 30 minutos,  $A_{60}$ = dureza del coágulo a los 60 minutos y RCUA=rendimiento de la cuajada ( $A_{30}$  y  $A_{60}$ = milímetros, RCUA= Auldist y cols., 2004 y Malacarne y cols., 2006 = Kg queso/100L leche, Garzón, 1996 = g de queso/L de leche, Caballero-Villalobos y cols. 2018a= L de leche /Kg de queso, Cerrato-Nutecal (2015)= Kg de queso /100L de leche).

Diversos estudios se ha centrado en desarrollar metodologías que permitan resolver las limitaciones experimentales, bien a través de instrumentación que posibilite recoger toda la información y procesarla a través de parámetros más estables y flexibles (Bittante, 2011), o bien a través de nuevos indicadores de eficiencia de la coagulación y aplicando nuevos modelos estadísticos que permitan estudiar mejor su comportamiento (Caballero-Villalobos y cols., 2018b).

Los instrumentos que se han usado de forma tradicional (lactodinamógrafos como el Formagraph y Gelograph), viscosímetros, reómetros, etc.), pueden determinar las propiedades de coagulación de la leche a nivel experimental, no siendo indicados para su uso en la línea de producción por diversos inconvenientes (destructivos, voluminosos, difíciles de instalar, manejo complicado, difícil limpieza, etc.) (Castillo, 2001; Jaramillo y cols., 2010; De Marchi y cols., 2013). Por esta razón, en la actualidad, se están evaluando otras metodologías no destructivas que permitan el análisis de las propiedades de coagulación de la leche incluso a nivel poblacional, como es el caso de la espectrofotometría de infrarrojo medio (FT-MIR), que puede ser usada para la predicción de los parámetros de coagulación (De Marchi y cols., 2009, 2013) o el infrarrojo cercano (NIR), que registran la absorbancia a través de unos detectores, sustituyendo el mecanismo del péndulo oscilante (Cipolat-Gotet y cols., 2012).

El **rendimiento en cuajada (RCUA)** o el rendimiento de la transformación de leche en queso es la expresión matemática de la cantidad de queso obtenida a partir de una determinada cantidad de leche (Assenat, 1991). Según Pirisi y cols. (1994), el rendimiento quesero viene expresado en kilogramos de queso por 100 litros de leche. Otros autores expresan el rendimiento quesero en base al porcentaje de recuperación en el queso de caseína y grasa de la leche (Banks y cols., 1984).

La cuajada desuerada retiene en peso aproximadamente la mitad del conjunto de componentes de la leche que forman el extracto seco total. Mientras que la caseína y la materia grasa de la leche son inmovilizadas por la cuajada casi completamente, el resto de componentes de la leche son retenidos en cantidad proporcional al contenido en agua de la cuajada, es decir, del lactosuero que no es expulsado en el curso del desuerado (Alais, 1985).

Resultaría interesante para la industria láctea conocer de antemano el rendimiento quesero, pero éste depende de muchos factores y es difícil ajustar una ecuación para cada queso en función del tipo de leche utilizada (Emmons y Modler, 2010). Por otro lado, se ha estudiado que existen correlaciones entre las propiedades de coagulación y el rendimiento quesero, lo que permite predecir su valor sin necesidad de medirlo directamente (López Galvez, 1993).

#### **2.4.2. PRINCIPALES FACTORES QUE INFLUYEN EN LA VARIACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS TECNOLÓGICAS DE LA LECHE.**

Al igual que ocurre con las características físico-químicas de la leche, las características tecnológicas de ésta y el rendimiento de la cuajada se encuentran influenciadas por diversos factores. Entre los factores intrínsecos a los animales se encuentra la raza, la edad y el estado de lactación; por su parte, los factores extrínsecos más importantes son el manejo de la ganadería, el ambiente pero también, la metodología utilizada para la obtención de los parámetros de coagulación y el rendimiento de la cuajada.

### ESTACIÓN DEL AÑO.

La época del año constituye un factor de variación muy importante, también en el caso de los parámetros de coagulación de la leche, aunque existen diferencias importantes entre los diferentes estudios en la materia, sobre todo por las variaciones de la calidad de la leche en función de la época del año.

En el estudio de [Bittante y cols. \(2015\)](#), en leche individual de vaca, se observa únicamente la influencia de la estación sobre el RCT, con valores más elevados de octubre a marzo que de abril a septiembre, no apareciendo diferencias significativas para los parámetros  $K_{20}$  y  $A_{30}$ . Sin embargo [Todaro y cols. \(2014\)](#), en su estudio de leche de tanque de ovejas en Italia, observa la influencia de la estación sobre todos los parámetros tecnológicos estudiados, siendo en primavera y otoño cuando se obtienen los RCT más bajos y los  $A_{30}$  más altos, con resultados variables para  $K_{20}$ ; paralelamente, la leche producida en verano e invierno presenta las peores propiedades de coagulación, con un incremento de RCT y un descenso en  $A_{30}$ . [Abilleira y cols. \(2010\)](#) señalan un incremento de RCT de abril a julio, principalmente asociado al avance en el estado de lactación; sin embargo, otros autores han encontrado menores RCT o incluso diferencias no significativas ([Joudu y cols., 2008](#); [Nájera y cols., 2009](#)). En otros estudios se han señalado menores tiempos de endurecimiento de la cuajada ( $K_{20}$ ), unidos a mayor dureza de la cuajada en la leche al final de lactación comparada con la de inicio de lactación ([Pellegrini y cols., 1994](#); [Nájera y cols. 2009](#)).

De manera general, el deficiente comportamiento de las propiedades de coagulación en verano puede deberse a un descenso en la eficiencia tecnológica de la leche observada en el último periodo de la lactación ([Pulina y cols., 2006](#)), pero también a otros factores como por ejemplo al incremento del recuento de células somáticas totales en este período ([Albenzio y cols., 2009](#)), que da lugar a la liberación de enzimas proteolíticas.

### PRODUCCIÓN DE LECHE.

La producción de leche se considera un factor importante que también modifica las propiedades de coagulación de la leche ([Sevi y cols., 2000](#); [Abilleira y cols., 2010](#)).

[Bittante y cols. \(2016\)](#), en muestras individuales en ovino, obtuvieron correlaciones fenotípicas bajas entre la producción de leche y los parámetros de la coagulación. Por otro lado, sí que obtienen correlaciones genéticas negativas entre la producción de leche y los parámetros  $K_{20}$ ,  $A_{30}$ ,  $A_{45}$  y  $A_{60}$ , lo que quiere decir que a mayor producción de leche, menor velocidad de endurecimiento y dureza de la cuajada. En leche individual de oveja, [Pazzola y cols. \(2014\)](#) evidenciaron la influencia significativa de la producción diaria de leche sobre RCT y  $K_{20}$ , y en mayor medida sobre  $A_{30}$ , no existiendo sin embargo relación significativa con  $A_{45}$  y  $A_{60}$ . Así, cuanto mayor es la producción diaria de leche, menor es el tiempo que tarda en empezar a coagular y se obtienen cuajadas más firmes. [Abilleira y](#)

cols. (2010), en leche de tanque de oveja Latxa, observa un incremento del tiempo de coagulación y de la dureza del coágulo conforme disminuye la producción de leche hacia final de lactación.

### CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS.

Diversos estudios realizados en rumiantes lecheros han evidenciado la influencia de la composición físico-química de la leche sobre los parámetros tecnológicos (Ikonen y cols., 2004; Park y cols., 2007). Así, una mayor concentración de grasa, proteína, sólidos totales y caseína dan lugar a una mayor velocidad de endurecimiento del coágulo y la obtención de un gel más firme. No obstante hay que señalar que las correlaciones obtenidas entre estos componentes y los parámetros tecnológicos suelen ser bajos, y que por tanto no explican el comportamiento de la leche en su totalidad (Auldist y cols., 2004).

**Tabla 6. Correlaciones fenotípicas entre las características tecnológicas y los componentes físico-químicos de la leche de oveja.**

PARAMETROS <sup>1</sup>	ESPECIE	TIPO DE MUESTRA	G	Pt	Es	Ct	REFERENCIA
RCT	vaca	tanque	-0,30	-	-	-0,24	Benedet y cols. (2018)
	vaca	tanque	0,01	-	-	0,06	Penasa y cols. (2016)
	oveja	individual	-0,13	-0,27	-	-0,24	Garzón (1996)
	oveja	tanque	0,21	0,46	0,24	0,44	González y cols. (2016)
K <sub>20</sub>	vaca	tanque	-0,43	-	-	-0,66	Benedet y cols. (2018)
	vaca	tanque	-	-	-	-0,34	Penasa y cols. (2016)
	oveja	individual	-0,13	-0,21	-	-0,21	Garzón (1996)
	oveja	tanque	0,20	0,45	0,24	0,43	González y cols. (2016)
A <sub>30</sub>	vaca	tanque	0,30	-	-	0,40	Benedet y cols. (2018)
	vaca	tanque	-	-	-	0,26	Penasa y cols. (2016)
	oveja	individual	-	-0,24	-	0,26	Garzón (1996)
	oveja	tanque	-0,19	-0,39	-0,24	-0,39	González y cols. (2016)
A <sub>60</sub>	oveja	Individual	-	0,37	-	0,28	Garzón (1996)
	oveja	tanque	-	-	-	-	González y cols. (2016)
RCUA	oveja	individual	0,27	0,39	-	0,24	Garzón (1996)
	oveja	individual	0,60	0,76	-	0,78	Othmane y cols. (2002)
	oveja	tanque	0,22	-	0,28	-	González y cols. (2016)

<sup>1</sup> RCT= tiempo de coagulación, K<sub>20</sub>= velocidad de endurecimiento de la cuajada, A<sub>30</sub>= dureza del coágulo a los 30 minutos, A<sub>60</sub>= dureza del coágulo a los 60 minutos, RCUA=rendimiento de la cuajada, G= grasa, Pt= proteína total, Es=extracto seco, Ct=caseína total, La=lactosa.

Las correlaciones fenotípicas entre las características tecnológicas y el rendimiento de la cuajada, y los componentes físico-químicos de la leche de oveja en distintos estudios se muestran en la **Tabla 6**. Es importante señalar la disminución en el rendimiento quesero como consecuencia de un incremento cuantitativo de la producción de leche, con la consecuente reducción en grasa y proteína, tanto en leche de vaca (Guinee y cols., 2007), como de oveja Assaf (Milan y cols., 2011). Autores como Manca y cols. (2016), en leche individual de oveja Sarda, han señalado la relación entre un elevado rendimiento de la cuajada, y valores altos de grasa, proteína y caseína de la leche. En leche individual de oveja Manchega, Garzón (1996) encuentra correlaciones significativas entre el rendimiento de la cuajada y el contenido en proteína ( $r=0,39$ ), y en menor magnitud con el contenido en grasa ( $r=0,27$ ) y caseína ( $r=0,24$ ). Correlaciones de igual signo pero mayor magnitud se han

obtenido en leche individual de oveja Churra, con correlaciones altas y significativas entre el rendimiento de la cuajada y los parámetros grasa ( $r=0,60$ ), proteína ( $r=0,76$ ) y caseína ( $r=0,78$ ) (Othmane y cols. (2002)). También en muestras de leche de tanque, González y cols. (2016) destacan las importantes correlaciones significativas entre el RCUA y los parámetros grasa ( $r=0,22$ ) y extracto seco ( $r=0,28$ ), no encontrando sin embargo correlaciones con la proteína y la caseína total.

También se han encontrado relaciones entre el contenido en grasa, proteína y caseína total y las características tecnológicas de la leche. En leche de tanque en vacuno lechero se han obtenido relaciones de grasa con RCT,  $K_{20}$  y  $A_{30}$ , y de caseína total con  $K_{20}$  ( $r=-0,66$ ) y  $A_{30}$  ( $r=0,40$ ) (Benedet y cols., 2018). Sin embargo, en otros estudios realizados en leche de tanque en vacuno se han obtenido correlaciones de distinta magnitud entre grasa y RCT y entre caseína y RCT (Penasa y cols., 2016). Por su parte, en leche individual de oveja Manchega, Garzón (1996) señala correlaciones de grasa con RCT y  $K_{20}$ , de proteína con RCT,  $K_{20}$ ,  $A_{30}$  y  $A_{60}$ , y de caseína con RCT,  $A_{30}$  y  $A_{60}$ . En leche de tanque de oveja, González y cols. (2016) señala correlaciones positivas de RCT y  $K_{20}$ , y negativas de  $A_{30}$ , con las características físico químicas principales (grasa, proteína total, extracto seco y caseína total).

Diversos estudios, tanto en vacuno (Bittante y cols., 2012), como en ovino lechero (Othmane y cols., 2002; Puledra y cols., 2017), han determinado además las correlaciones de los parámetros tecnológicos con el contenido en lactosa y el pH de la leche. En el estudio de Pazzola y cols. (2018), en leche individual de oveja Sarda, la concentración de lactosa posee un efecto significativo sobre prácticamente todas las propiedades de coagulación, obteniéndose los mayores valores de varianza explicada para RCT. En este estudio se clasificaron las muestras en distintas clases según el contenido de lactosa, observando que los tiempos de coagulación presentaban valores más bajos cuanto mayor era el contenido en lactosa y viceversa, existiendo una diferencia entre la leche con mayor contenido en lactosa (lactosa  $>5,17\%$ ) y la leche con menor contenido en lactosa (lactosa  $<4,47\%$ ) para los parámetros RCT y  $K_{20}$ : RCT de 8,20 vs 11,40 y  $K_{20}$  de 1,94 vs 2,08. Además señalaron que la leche con un contenido en lactosa inferior a 4,76% se caracterizaban por un descenso lineal de los valores de dureza de la cuajada, especialmente de  $A_{30}$  y  $A_{45}$ , y que un contenido en lactosa inferior a 4,61% se asociaba a un deterioro generalizado de todos los parámetros tecnológicos. Aún no se conoce el mecanismo por el cuál la lactosa influye en las características de coagulación de la leche, aunque podría estar asociado al papel de la lactosa como regulador osmótico, además de por la relación negativa entre el contenido en proteína y lactosa de la leche (Poulsen y cols., 2015a; Pazzola y cols., 2018). Por otro lado, el pH de la leche se considera uno de los factores que más influyen sobre el proceso de coagulación, de tal forma que una leche con un pH más básico tiende a presentar valores para RCT y  $K_{20}$  mayores, que la leche con un pH más ácido. Esto se debe a la influencia del pH de la leche sobre la estabilidad de las micelas de caseína, y por extensión, a su influencia sobre las propiedades de coagulación (Bencini, 2002; Pirisi y cols., 2007; Pazzola y cols., 2018). Además, hay que mencionar que un incremento del recuento de células somáticas podría producir un descenso



en el contenido de lactosa, a la vez que da lugar a un aumento del pH, ligado directamente a un descenso de la producción lechera (Manca y cols., 2016; Pazzola y cols., 2018).

Jaramillo (2007) señala que la composición de la leche no logra explicar en su totalidad los resultados de los parámetros tecnológicos y el rendimiento en cuajada de la leche, indicando que otros parámetros como las características de las micelas, la composición de la caseína o la proporción del contenido de calcio y fósforo podrían afectar de forma decisiva.

#### **CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS.**

Las características microbiológicas de la leche influyen sobre los parámetros tecnológicos, aunque existen escasos trabajos en ovino lechero sobre estos aspectos (Le Maréchal y cols., 2011). Lucey (2002) señala que la formación del coágulo inicial se debe a la acción del cuajo, pero seguidamente las propiedades reológicas, mecánicas y de textura de la cuajada se ven alteradas por la acidificación producida por las bacterias propias de la leche y aquellas que se añaden como fermentos iniciadores. En el trabajo de Cousin (1982), ya se evidenció el efecto de un alto recuento de bacterias psicrotrofas sobre la producción quesera, así como en otros atributos sensoriales del queso. Los recuentos microbianos elevados pueden llevar asociados una carga enzimática de acción proteolítica y lipolítica sobre la leche, dando lugar a un descenso de su contenido graso y proteico, afectando de forma indirecta las propiedades de coagulación (Auldist y cols., 1996; Sevi y cols., 1999a).

Otros estudios se han centrado en el efecto de las infecciones intramamarias sobre las propiedades de coagulación, y que estarían asociados bien con la acción directa de enzimas o péptidos activos, o de forma indirecta, por las alteraciones provocadas sobre la fracción proteica, principalmente sobre las caseínas. Sin embargo, no todos los patógenos se comportan de la misma forma y dependiendo del tipo y la cantidad de microorganismos presentes en la leche se van a observar resultados diferentes en los parámetros de coagulación. Por ejemplo, al comparar el tiempo de coagulación y la dureza del coágulo de leches contaminadas por *Staphylococcus aureus* frente a leches control, se han obtenido mayores tiempos y menor dureza de la cuajada en las leches contaminadas por dicho microorganismo (Lucey, 2002).

#### **RECuento DE CÉLULAS SOMÁTICAS.**

Además, el efecto del recuento de células somáticas sobre las cualidades tecnológicas de la leche ha sido estudiado por diversos autores. Pazzola y cols. (2018), en leche individual de oveja Sarda, señalan un efecto del recuento de células somáticas sobre RCT, aunque no observan dicha relación sobre las variables relacionadas con la dureza de la cuajada ( $A_{30}$ ,  $A_{45}$  y  $A_{60}$ ). Estos mismos resultados han sido obtenidos en otros estudios (Pirisi y cols., 2000b; Giangolini y cols., 2004; Bittante y cols., 2012; Marti-De Olives y cols., 2015; Bobbo y cols., 2017; Pazzola y cols., 2018; Paschino y cols., 2019). Estos estudios indican que altos recuentos de células somáticas da lugar a coagulaciones más lentas



y cuajadas menos firmes. Sin embargo, Raynal-Ljutovac y cols. (2007) indican que tanto RCT como  $A_{30}$  incrementan su valor con altos recuentos de células somáticas, mientras que  $K_{20}$  muestra una tendencia contraria, sobre todo cuando disminuye el contenido en caseína. Caballero-Villalobos y cols. (2016), en leche individual de oveja Manchega, observaron que cuando se incrementaban los recuentos celulares se producía un aumento de RCT y  $K_{20}$ , y un descenso de  $A_{30}$ , que podría deberse a un aumento en la rotura de la caseína como consecuencia del incremento de la actividad de la plasmina, principal enzima asociada a las células somáticas en la leche. En estudios anteriores, Sevi y cols (1999a) fijan el umbral de RCST=700.000 cel/mL para considerar una leche de buena calidad microbiológica y con habilidad para la coagulación. Otros autores han señalado que un aumento en el recuento celular provoca además un menor rendimiento quesero (Pulina y cols., 2006), aumenta el potencial proteolítico en la maduración del queso (Albenzio y cols., 2009) e incrementa la concentración de ácidos grasos libres (Jaeggi y cols., 2003).





# CAPÍTULO 3

## SISTEMAS DE CONTROL DE LA CALIDAD DE LA LECHE

### CONTENIDOS

Nuevos criterios para los sistemas de control de la calidad de la leche.



## SISTEMAS DE CONTROL DE CALIDAD DE LA LECHE.

La leche de oveja se destina prácticamente en su totalidad a la producción de queso y por esta razón, la mejora de su calidad es primordial no sólo para la industria quesera, sino también por el interés de los propios productores, que pueden incrementar sus beneficios incrementando la calidad (Pirisi y cols., 2007). Para ello, tanto instituciones como el propio mercado intentan una regularización de la mejora de la calidad lechera desde diferentes aspectos, aunque la situación de los sistemas de control de calidad varía mucho dependiendo del país, área geográfica, especie, raza productora, sistema y nivel productivo y de recogida de leche, criterios de calidad, umbrales aplicados, etc., dificultando el establecimiento de sistemas globales para el control de la calidad de la leche de los pequeños rumiantes lecheros (Dubeuf y Le Jaouen, 2005).

A nivel legislativo, la definición de unos estándares higiénicos y sanitarios internacionales, recogidos en el Codex Alimentarius y en la legislación alimentaria de varios países, junto con el desarrollo de políticas dentro del sector de los pequeños rumiantes ligadas a incentivos financieros, han favorecido un avance e implementación de los sistemas de pago de la leche en relación con su calidad.

En general, los sistemas de control de la calidad se han centrado en la evaluación de la composición cuantitativa de la leche (grasa, proteína y extracto seco, principalmente). Posteriormente, el recuento de gérmenes totales (RMT) se incorporó a estos sistemas, teniendo en cuenta el obligado cumplimiento de los umbrales marcados por el Reglamento (CE) 853/2004 para pequeños rumiantes y que permite tener una idea de la calidad higiénica de la leche. El RCST también se incluye como sistema de evaluación del estado sanitario del rebaño en algunos sistemas, aunque la legislación europea actual no establece unos umbrales máximos obligatorios para pequeños rumiantes. En Estados Unidos sí que existen unos límites legales para el RCST de 750.000 cel/mL, para la leche de grado “A” de vaca, búfalos y ovejas, y de 1.500.000 cel/mL para cabras. En España, estas herramientas han sido utilizadas tanto por técnicos como por ganaderos para evaluar la eficiencia de los procesos de producción, limpieza, prácticas sanitarias y sanidad mamaria, así como para el mantenimiento de la calidad y la durabilidad de la leche y de sus productos derivados (De Garnica y cols., 2013b).

En algunos países de la Unión Europea, como Grecia, Italia o Francia, se han establecido sistemas de control de la calidad de la leche basados en los criterios clásicos físico-químicos e higiénico-sanitarios. Es de destacar la situación en Francia, donde el gran desarrollo del sector del ovino lechero en el área del Roquefort y de los Pirineos Atlánticos ha dado lugar al establecimiento de un sistema de clasificación de la leche que incluye otros criterios. Los más notorios han sido la aplicación de unos umbrales de clasificación del índice combinado entre el recuento de gérmenes totales y el recuento de coliformes o la determinación del recuento de esporas butíricas causantes de la hinchazón tardía en quesos de pasta prensada (Pirisi y cols., 2007). Además en Francia, el Décret nº 2012-1250, prevé

la posibilidad de utilizar en el control de la calidad los recuentos de esporas butíricas, de estafilococos coagulasa positivos, coliformes, pseudomonas, enterobacterias, mohos y levaduras, etc.

En España, los sistemas de control y de pago por calidad han estado ligados a acuerdos no reglados entre las empresas y los productores. A esto se une la competición entre las empresas y queserías, que ha producido diferentes relaciones contractuales entre ganaderos y empresarios debido principalmente a cambios en la situación del mercado (Pirisi y cols., 2007). La escasa uniformidad en los criterios de los sistemas de control de calidad da lugar a que las queserías establezcan sistemas de pago teniendo en cuenta diferentes índices, incluso valores umbrales de penalización y bonificación muy diferentes. La **Tabla 7** recoge algunos ejemplos de los sistemas de pago por calidad de la leche de oveja de distintas queserías de Castilla-La Mancha (Jiménez y cols., 2013).

En España se ha constituido la Interprofesional Láctea (INLAC) y se ha regulado la normativa con el objetivo de mejorar el equilibrio de la cadena de valor en el sector lácteo y reforzar la posición negociadora de los productores. Así, el **Real Decreto 1363/2012** regula el reconocimiento de las organizaciones de productores de leche y de las organizaciones interprofesionales en el sector lácteo, estableciendo las condiciones de contratación, y constituye la normativa básica que regula en nuestro país las medidas del denominado “paquete lácteo”. Una parte esencial de este contrato se encuentra en su Artículo 11, donde establece los requisitos mínimos del contrato entre organizaciones o asociaciones de producción de leche y los receptores. El Anexo III recoge que será necesario incluir la correcta identificación de las partes, el objeto del contrato y el precio que se pagará por el suministro (fijo, variable o mixto), añadiendo que en todos los casos los precios podrán incluir además un ajuste en función de primas dependientes de factores como volumen suministrado, calidad físico-química o higiénico-sanitaria u otros parámetros. El receptor de la leche debe de comunicar los datos de las entregas contratadas al Fondo Español de Garantía del MAPA, además de datos del receptor y del productor, datos de registro, así como información referente a la especie, volumen contratado (litros), tolerancia al volumen contratado (%) y tipo de precio aplicado.

Tabla 7. Sistemas de pago por calidad de leche de oveja de distintas queserías de Castilla-La Mancha (Jiménez y cols., 2013).

	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6	Q7	Q8	Q9
COMPOSICIÓN FÍSICO-QUÍMICA									
EXTRACTO SECO ÚTIL	F	F	F	F	F	F	F	F	F
RECuento DE GÉRMESES TOTALES ( $\times 10^3$ ufc/mL)									
<100	B					B	B	B	B
100-200						B	B	B	B
200-300							B	B	
300-500	P							B	
500-1.000	P			P	P	P	P	P	
1.000-1.500	P		P	P	P	P	P	P	P
1.500-3.000	P	P	P	P	P	P	P	P	P
>3.000	P	P	P	P	P	P	P	P	P
RECuento DE CÉLULAS SOMÁTICAS ( $\times 10^3$ cel/mL)									
<500	B			B	B	B	B	B	B
500-750	B				B		B		
750-1.000	B				B		B		
1.000-1.250	P			P			B		
1.250-1.500	P			P	P	P	B		
1.500-2.000	P	P	P	P	P	P		P	
>2.000	P	P	P	P	P	P	P	P	
NUEVOS CONCEPTOS									
Recuento de <i>E.coli</i> (ufc/mL)									
<100	B								
>1.000	P								
Ganadero joven								B	
Camino									
En buen estado								B	
En mal estado								P	

Q: Quesería, F: Concepto fijo, B: Concepto variable-Bonificación, P: Concepto variable-Penalización.

Para facilitar la puesta en práctica del sistema y la aplicación del [Real Decreto 752/2011](#), por el que se establece la normativa básica de control que deben cumplir los agentes del sector de leche cruda de oveja y cabra, INLAC ha diseñado un modelo de contrato donde se establecen criterios de calidad obligatorios para gérmenes totales o residuos que establece la legislación comunitaria, así como condiciones mínimas para la leche en cuanto al contenido en extracto seco útil ( $\geq 10\%$ ), la acidez ( $\leq 23^\circ$  Dornic) o el punto crioscópico. El objetivo principal de estos contratos es fijar un precio de la leche en función de una calidad mínima, y un precio variable, con bonificaciones o penalizaciones, en base al recuento de gérmenes totales y/o el recuento de células somáticas totales, así como otros nuevos objetivos o conceptos de calidad que se consideren ([Molina y cols., 2009](#)). Es importante por lo tanto introducir nuevos criterios dentro de los sistemas de control de la calidad de la leche, más acordes con las nuevas tendencias del mercado, pero velando en cualquier caso por la obtención de productos seguros para el consumidor y con buena aptitud tecnológica para su transformación en quesos y/o otros productos derivados.

#### **NUEVOS CRITERIOS PARA LOS SISTEMAS DE CONTROL DE LA CALIDAD DE LA LECHE.**

Tradicionalmente, se ha tenido en cuenta la composición cuantitativa de diferentes parámetros de la leche (grasa, proteína, recuento de gérmenes totales y células somáticas, principalmente), coexistiendo diferentes especificaciones, niveles mínimos o rangos, con penalizaciones o incentivos dependiendo de la localización de la industria quesera y de las condiciones o necesidades del mercado. La introducción de nuevos criterios podría ser importante en los sistemas de control de la calidad, como por ejemplo:

- ☞ Contenido y tipo de caseínas presentes en la leche: la calidad de la cuajada depende del tipo de caseínas de la leche y de las características físico-químicas y de tamaño de las micelas de caseína ([Glantz y cols., 2010](#)).
- ☞ Contenido en urea de la leche: su estudio permite detectar dietas mal equilibradas (en cuanto al contenido en energía y proteína), importantes desde el punto de vista del estado de salud de los animales productores, pero también para mejorar la sustentabilidad de los sistemas de producción en rumiantes (desde el punto de vista medioambiental, económico y ético) ([Bendelja y cols., 2009](#); [Bocquier y cols., 2010](#)).
- ☞ Contenido y tipo de ácidos grasos: la adecuada composición en lípidos de la leche es muy valorada por los consumidores actualmente; tanto desde el punto de vista de la preocupación por la salud y la nutrición, como desde el punto de vista del consumo de alimentos tradicionales ligados a la tierra ([Nudda y cols., 2014](#)).
- ☞ Microbiología diferencial de la leche: para la determinación de los grupos mayoritarios de la leche, su origen y su acción sobre la calidad de la leche ([Jayarao y cols., 2004](#); [Elmoslemany](#)



y cols., 2009a; De Garnica y cols., 2013b); algunos de estos grupos microbianos intervienen en la formación de componentes secundarios que afectan a los productos derivados y a la transformación de éstos (esporas butíricas, toxinas estafilocócicas, aminas biógenas, etc.).

☞ Aplicación de buenas prácticas en ganaderías: aplicación de programas de aseguramiento de la calidad y la seguridad de la leche en ganaderías ovinas, adaptadas a las condiciones particulares de producción (Gonzalo y cols., 2005; Molina y cols., 2009).

☞ Péptidos bioactivos: secuencias de aminoácidos que se obtienen de la hidrólisis de la proteína y que presentan actividad biológica, al presentar propiedades antihipertensiva, antimicrobial, inmunomoduladora, antitrombótica, etc. (Torres-Llanez y cols., 2005).

☞ Contenido en antioxidantes: con un importante papel en prevenir la oxidación de los lípidos y mantener la calidad de la leche, además de su aplicación como ingredientes de otros alimentos o fármacos que pueden reforzar la salud del consumidor (Chen y cols., 2003).

☞ Presencia de enzimas en la leche

Las infecciones intramamarias dan lugar a una elevación en el recuento de células somáticas, que a su vez induce la liberación de enzimas con diferentes funciones en la leche. Además, determinados grupos microbianos (psicrotrofos, principalmente) también tienen la capacidad de liberar enzimas con acción proteolítica o lipolítica. Algunas de estas enzimas pueden llegar a causar defectos en la leche y los productos derivados, ocasionando grandes pérdidas económicas (Hantsis-Zacharov y Halpen, 2007; Silanikove y cols., 2016). La plasmina es la principal enzima proteolítica en leche y da lugar a la proteólisis de las caseínas, principalmente de la  $\alpha$ s-Caseína y la  $\beta$ -Caseína, influenciada directamente por factores como el estado de lactación del animal y el estado sanitario de la ubre (Theodorou y cols., 2007; Koutsouli y cols., 2015; Caballero-Villalobos, 2016).

☞ Parámetros tecnológicos

Por último, destaca el interés de incluir los parámetros tecnológicos de la leche dentro de los sistemas de control, más aún si consideramos que prácticamente la totalidad de la leche de oveja se destina a la elaboración de queso. La información que éstos aportan sobre la tasa y extensión de la coagulación de la leche por acción del cuajo, así como las características del coágulo resultante, sería de utilidad para el proceso de fabricación del queso. Además serían muy útiles para detectar la presencia de leches anómalas, sobre todo las de coagulación lenta, que dan lugar a coágulos de escasa masa caseínica y deshidratación desigual, que producen quesos estructural y organolépticamente defectuosos (Mariani y Pecorari, 1991).



# PARTE III

## MATERIAL Y MÉTODOS







# CAPÍTULO 4

## MATERIAL

### CONTENIDOS

4.1. Localización del estudio.....	63
4.2. Diseño experimental y recogida de información.....	63
4.3. Recogida de muestras de leche.....	64



#### 4.1. LOCALIZACIÓN DEL ESTUDIO.

El estudio se ha desarrollado en la región natural de La Mancha, situada en la comunidad de Castilla-La Mancha, que ocupa buena parte de las actuales provincias de Albacete, Ciudad Real, Cuenca y Toledo (**Figura 5**), con una extensión de 40.000 km<sup>2</sup>. Su clima se ha definido como mediterráneo continental, caracterizado por inviernos fríos y veranos calurosos y secos. La probabilidad de precipitaciones es mayor en primavera y otoño, sobrepasando los 600 mm anuales en regiones montañosas, oscilando en el resto de las zonas entre 300-350 mm anuales.

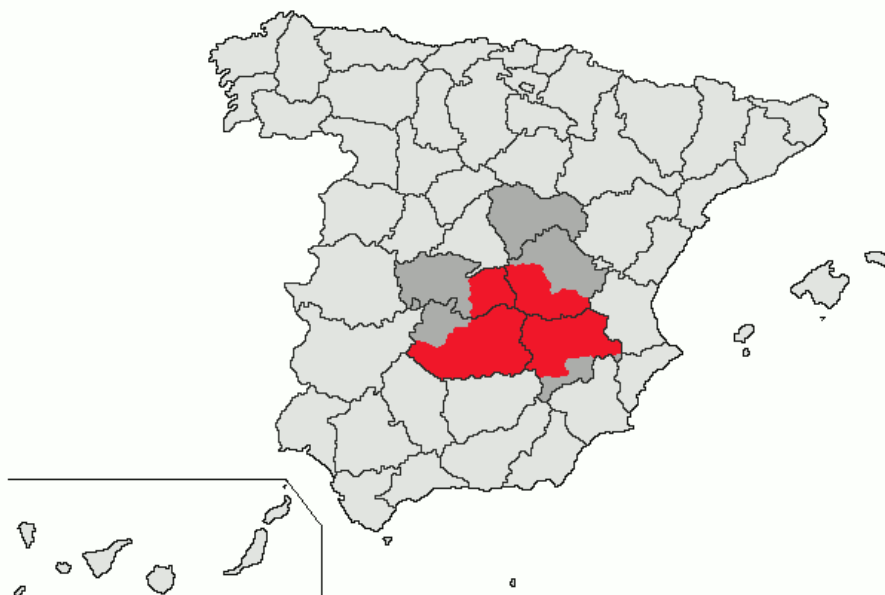


Figura 5. Región natural de La Mancha (en rojo) de la Comunidad Autónoma de Castilla-La Mancha, España (Wikipedia, 2019).

#### 4.2. DISEÑO EXPERIMENTAL Y RECOGIDA DE INFORMACIÓN.

Se utilizó un diseño de muestreo aleatorio estratificado en base al censo de las explotaciones ( $\leq 600$  ovejas; 600-1.200 ovejas;  $\geq 1.200$ , ovejas), con asignación proporcional, de acuerdo con la metodología propuesta por Valerio y cols. (2009). Según el registro de ganaderías inscritas en la Denominación de Origen Protegida Queso Manchego del año 2011 (DOP Queso Manchego, 2019), la población está conformada por 798 explotaciones de ovejas de raza ovina Manchega, de las que finalmente se seleccionaron 77, lo cual equivale al 10% de la población.

La información sobre las características y sistema de producción de las ganaderías estudiadas se ha extraído de una encuesta cerrada, realizada in situ en cada ganadería, y similar a la descrita por Toro-Mújica y cols. (2012), con seis bloques temáticos relativos a:

1. Características generales de la explotación.
2. Características estructurales.

3. Manejo de la alimentación.
4. Manejo reproductivo.
5. Aspectos higiénico-sanitarios, producción y conservación de la leche.
6. Aspectos relativos a la sanidad mamaria

#### **4.3. RECOGIDA DE MUESTRAS DE LECHE.**

La toma de muestras de leche de tanque se realizó entre marzo de 2012 y febrero de 2013. Se recogieron un total de 308 muestras de leche de tanque de las 77 ganaderías de ovejas de raza Manchega, con una periodicidad estacional, considerando primavera (marzo, abril y mayo), verano (junio, julio y agosto), otoño (septiembre, octubre y noviembre) e invierno (diciembre, enero y febrero).

La recogida de muestras se hizo de acuerdo al protocolo señalado en el Anexo II del Real Decreto 752/2011 referente la normativa básica de control que deben cumplir los agentes del sector de leche cruda de oveja y cabra. Las muestras de leche de tanque se han recogido previa homogenización del contenido del tanque de refrigeración, en contenedores estériles de 200 mL, siendo transportadas en condiciones de refrigeración ( $<5^{\circ}\text{C}$ ) hasta el Laboratorio de Lactología y Quesería Experimental del Centro Regional de Selección y Reproducción Animal (CERSYRA-IRIAF) de Valdepeñas (Ciudad Real-España), donde se han preparado las alícuotas correspondientes para cada uno de los análisis del estudio: físico-químico, colorimétrico, microbiológico diferencial, recuento de células somáticas y características tecnológicas de la leche de oveja Manchega.



# CAPÍTULO 5

## MÉTODOS

### CONTENIDOS

<b>5.1. Determinación de los parámetros físico-químicos y recuento de células somáticas totales de la leche de tanque.....</b>	<b>65</b>
<b>5.2. Análisis colorimétrico.....</b>	<b>66</b>
<b>5.3. Análisis de pH.....</b>	<b>66</b>
<b>5.4. Análisis microbiológico diferencial.....</b>	<b>66</b>
<b>5.5. Análisis de las características tecnológicas.....</b>	<b>69</b>
<b>5.6. Análisis estadístico.....</b>	<b>71</b>
<b>5.6.1. Características físico-químicas y colorimétricas.....</b>	<b>72</b>
<b>5.6.2. Características higiénico-sanitarias.....</b>	<b>73</b>
<b>5.6.3. Características de coagulación de la leche.....</b>	<b>76</b>



### **5.1. DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS Y RECUENTO DE CÉLULAS SOMÁTICAS TOTALES DE LA LECHE DE TANQUE.**

Para este análisis se ha tomado una alícuota de 50 mL de cada una de las 308 muestras de leche de tanque del contenedor estéril inicial y se le ha adicionado 133 µL de azidiol como agente bacteriostático, siguiendo el procedimiento establecido en el [Real Decreto 752/2011](#) relativo a la normativa básica de control, que deben cumplir los agentes del sector de leche cruda de oveja y cabra. El azidiol está compuesto por cloranfenicol (0,075% p/v), azida sódica (1,8% p/v), azul de bromofenol (0,035% p/v), citrato trisódico (4,5% p/v), etanol (1% v/v) y agua destilada, siendo su componente principal el cloranfenicol, antibiótico de amplio espectro, especialmente efectivo frente a estafilococos. Esta muestra ha sido enviada en condiciones de refrigeración (<5°C) para su análisis, dentro de las 48 horas post-recogida, al Laboratorio Interprofesional Lácteo de Castilla-La Mancha (LILCAM) de Talavera de la Reina (España).

Los parámetros de composición físico-química analizados fueron: grasa (G, %), proteína bruta (Pt, %), extracto seco (Es, %), caseína total (Ct, %), lactosa (La, %) y urea (U, mg/L), siendo analizados mediante un espectrofotómetro de infrarrojo medio Milkoscan 6000 FT (Foss Electric, Hillerød, Dinamarca). Para el recuento de células somáticas totales se ha utilizado un equipo de citometría de flujo Fossomatic FC (Foss Electric, Hillerød, Dinamarca).

El calibrado (precalibrado-estandarización) de los analizadores automáticos se ha realizado utilizando como referencia los siguientes métodos:

- ☞ Materia grasa: Método Röse Gottlieb/ (ISO 1211 / IDF 001:2010), con periodicidad trimestral.
- ☞ Proteína bruta: Método Kjeldahl (ISO 8968-3 / IDF 020-3:2004), con periodicidad trimestral.
- ☞ Extracto seco: método directo de evaporación, mediante desecación en estufa a una temperatura de  $102 \pm 2^{\circ}\text{C}$  (ISO 6731 / IDF 021:2010), con periodicidad trimestral.
- ☞ Caseína total: ISO 17997-2 / IDF 029-2: 2004 -Milk – Determination of the casein-nitrogen content-Part 2: Direct method; con periodicidad trimestral.
- ☞ Lactosa: Calculada por diferencia (Lac= TS-MG-PROT-CENIZAS), con periodicidad trimestral.
- ☞ Urea: Con muestras de leche del Centre d' Expertise et de Contrôle des Analyses laitières (CECALAIT) (Francia), con periodicidad bimestral.
- ☞ Recuento de células somáticas (IDF 148-2 – ISO 13366-2 (2006)-Milk-Enumeration of somatic cells-Part 2: Guidance on the operation of fluoro-opto-electronic counters), con muestras de leche del Laboratorio MIH (Alemania) con periodicidad mensual.

### **5.2. ANÁLISIS COLORIMÉTRICO.**

Se ha realizado en el Laboratorio de Lactología del CERSYRA, a partir de una alícuota de 50 mL de cada una de las 308 muestras de leche de tanque, realizando cuatro medidas para cada muestra.

El análisis del color de la leche se llevó a cabo mediante un espectrofotómetro Konica Minolta CM-2300d (Konica Minolta Business Technologies, Inc., Osaka, Japón), siguiendo la metodología descrita por Buffa y cols. (2001). Se obtuvieron los valores según la escala del CIE  $L^*a^*b^*$ , donde el parámetro  $L^*$  varía de 0 a 100 y da una medición de la luminosidad, el valor  $a^*$  corresponde a la variación en las proporciones del color rojo (valores positivos) a verde (valores negativos), y  $b^*$  corresponde a las variaciones del color amarillo (valores positivos) al azul (valores negativos).

### **5.3. ANÁLISIS DE pH.**

La determinación del pH se ha realizado con un electrodo para líquidos en el pHmetro Crison Basic 20 (Crison Instruments, Barcelona, España).

### **5.4. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DIFERENCIAL.**

Se ha realizado en el Laboratorio de Lactología del CERSYRA, a partir de una alícuota de 50 mL de cada una de las 308 muestras de leche de tanque, manteniéndose en condiciones de refrigeración ( $<4^{\circ}$ ) para su procesamiento, dentro de las 24 horas post-recogida. En primer lugar se prepararon una serie de diluciones seriadas a partir de la muestra leche de tanque, de  $10^{-1}$  a  $10^{-5}$ , en agua de peptona (Figura 6).

Para todas las determinaciones se utilizó un método de siembra en superficie, en placas de petri de 20 mm previamente preparadas con los diferentes medios generales y selectivos (20 mL de medio/placa).

En la **Tabla 8** se exponen las condiciones para los recuentos de los diferentes grupos microbianos estudiados.

Tabla 8. Condiciones para el recuento de los diferentes grupos microbianos (Elaboración propia).

GRUPO/ESPECIE	MEDIO DE CULTIVO	TEMPERATURA DE INCUBACION (°C)	TIEMPO DE INCUBACION (h)	INTERPRETACION Y EXPRESION DE LOS RESULTADOS
Mesófilos	PCA <sup>6</sup>	30±1	72	ISO 4833:2003
Termodúricos	PCA <sup>6</sup> (leche previamente pasteurizada a 62,8°C - 30 minutos)	30±1	72	Frank y Yousef, (2004)
Psicrotrofos	PCA <sup>6</sup>	6,5±0,5	10 días	ISO 6730/IDF101:2005
<i>Pseudomonas spp</i>	Cetrimida	35±1	48	Dore y cols., (2007)
<i>Escherichia coli</i> /Otros coliformes	Cromold TM Coli <sup>7</sup>	37±1	24	ISO 16649-2:2001/ ISO 16140:2003
CGPCN <sup>1</sup>	Edwards modificado <sup>8</sup>	35±1	48	De Garnica y cols., 2013c
BAL <sup>2</sup>	MRS <sup>9</sup>	30±1	72	ISO 15214:1998
SCN <sup>4</sup> /SCP <sup>5</sup>	BP-RPF <sup>10</sup>	37±1	24	Jayarao y cols., 2004

<sup>1</sup>CGPCN: cocos gram-positivos catalasa-negativos; <sup>2</sup> BAL: bacterias ácido lácticas; <sup>3</sup>BAB: esporas butíricas; <sup>4</sup>SCN: estafilococos coagulasa negativos; <sup>5</sup>SCP: estafilococos coagulasa positivos; <sup>6</sup>PCA: Plate Count Agar (PCA) (Panreac, Barcelona, Spain); <sup>7</sup>Cromold TM Coli (bioMérieux, Madrid, España); <sup>8</sup>Medio Edwards modificado, con suplemento selectivo de colistina y ácido oxolínico (Oxoid, Cambridge, Reino Unido); <sup>9</sup>Man, Rogosa y Sharpe; <sup>10</sup>Baird-Parker-Rabbit Plasma Fibrinogen.

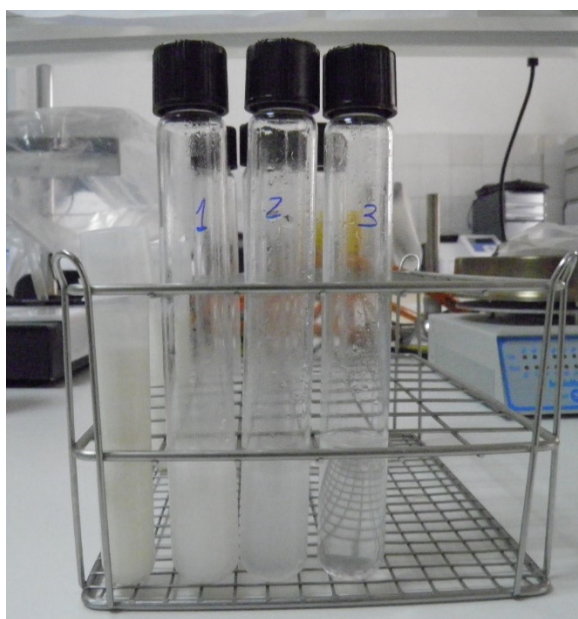


Figura 6. Diluciones seriadas para el análisis microbiológico diferencial.

Para cada grupo microbiano se seleccionaron las diluciones correspondientes para el crecimiento en placa por duplicado, inoculando en la superficie del agar 0,1 mL/placa, extendiendo con asa de Drigalski estéril, y dejando secar el inóculo durante 2-3 minutos. Una vez transcurrido el periodo de incubación señalado para cada una de las determinaciones, se realizó el recuento con un contador manual de colonias por un técnico entrenado según Laird y cols., (2004) e ISO 7218:2007. Los resultados se refirieron a número de unidades formadoras de colonia por mililitro de muestra (UFC/mL).

Para el recuento de esporas de *Clostridium* fermentadoras del lactato (BAB) se utilizó la técnica del número más probable (NMP), según la metodología USDA (2003) y Arias y cols. (2013). A partir de las diluciones decimales preparadas para la realización de las anteriores determinaciones, se inoculó 1 ml de cada una de ellas en tres tubos estériles por dilución con 9 ml de caldo Bryant and Burkey (BBB, Merck, Darmstadt, Alemania) (Figura 7). Todos los tubos inoculados se sellaron posteriormente con una capa de parafina, siendo sometidos a una temperatura de 75°C durante 10 minutos para eliminar las células vegetativas. Posteriormente, los tubos se incubaron en una estufa a 37°C durante 7 días, comprobándose diariamente la producción de gas producida por el desplazamiento del tapón de parafina. Los recuentos a partir de la técnica del NMP se expresaron en esporas/mL.

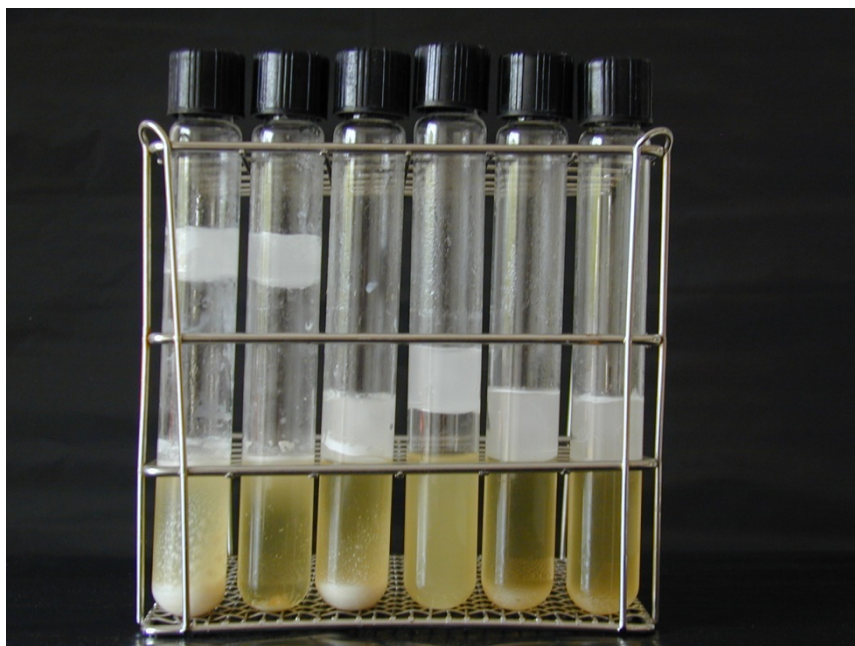


Figura 7. Recuento de esporas butíricas mediante el método del Número Más Probable.

### **5.5. ANÁLISIS DE CARACTERÍSTICAS TECNOLÓGICAS.**

El análisis de los parámetros tecnológicos de las 308 muestras de leche de tanque se ha realizado en el Laboratorio Lechero de Pequeños Rumiantes del Departamento de Producción Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Córdoba (España), a partir de una alícuota de 50 mL transportada en condiciones de refrigeración ( $<4^{\circ}$ ) para su procesamiento en las 24 horas post-recogida. El análisis de las características tecnológicas se realizó con un lactodinamógrafo Formagraph (Foss Electric A/S, Hillerød, Dinamarca). Este dispositivo dispone de un sistema de cubetas con 10 pocillos cada una, en el que se depositan 10 mL de cada una de las muestras de leche de tanque. Se procede a calentarlas hasta una temperatura de  $32^{\circ}\text{C}$  en una placa calefactora (módulo de servicio del Formagraph). Se añaden entonces 200  $\mu\text{L}$  de cuajo líquido al 4% con fuerza de 185 IMCU/mL (quimosina bovina 80%-pepsina 20%) a cada uno de los pocillos mediante un sistema de cucharillas múltiples, de tal modo que permita la dispensación simultánea del cuajo a todas las muestras de la cubeta. Las muestras de leche se agitan con las cucharillas para conseguir una mezcla homogénea con el cuajo y a continuación, la cubeta se introduce en el módulo de registro del Formagraph. El módulo de registro está formado por 10 péndulos, que se van introduciendo en cada uno de los 10 pocillos de la cubeta, con lo que la muestra de leche entra en contacto con ellos (**Figura 8**). La cubeta queda apoyada en una placa del módulo de registro que mantiene la temperatura de análisis y que, cada 15 segundos, presenta un movimiento vibratorio. Mientras que la leche permanece líquida, el movimiento vibratorio de la placa no se transmite a los péndulos, por tanto, estos no presentan ningún movimiento oscilatorio, registrándose como una línea vertical. Al dar comienzo la coagulación, se produce el aumento simultáneo de la viscosidad de las muestras de

leche, debido a la formación del coágulo y el movimiento oscilatorio del péndulo se registra mediante puntos laterales, dibujándose así el diagrama de la coagulación.

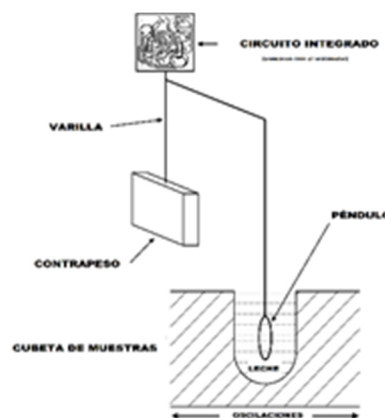
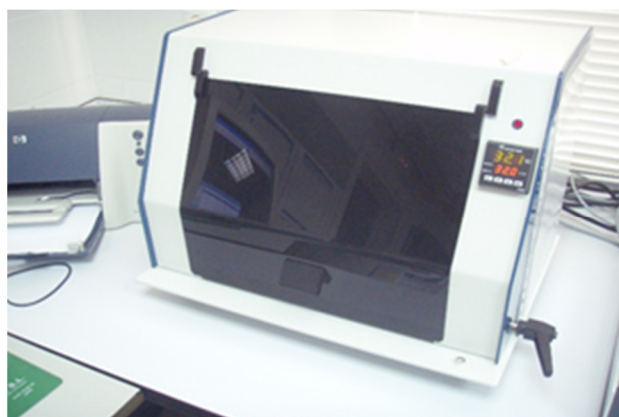


Figura 8. Lactodinamógrafo Formagraph y detalle del módulo de registro.

Los parámetros tecnológicos medidos a través de este sistema son los siguientes (Figura 9):

- **RCT:** Representa el tiempo transcurrido hasta la formación del coágulo (tiempo de coagulación), que se determina midiendo la distancia desde el origen del análisis hasta el punto donde la curva comienza a abrirse (1 mm de apertura). El resultado viene expresado en minutos.
- **K<sub>20</sub>:** Representa la velocidad de endurecimiento del coágulo y es la distancia media entre el inicio de la coagulación y el punto donde la campana presenta una amplitud de 20 mm. El resultado se expresa en minutos.
- **A<sub>30</sub> y A<sub>60</sub>:** Representan la dureza del coágulo a los 30 (dureza media) y a los 60 minutos (dureza máxima) y se expresan en milímetros, según la amplitud que presente la campana en esa línea. La distancia desde el origen hasta que han transcurrido los 30 o los 60 minutos correspondientes se determina midiendo 70 y 120 mm respectivamente.

Una vez transcurridos los 60 minutos, se corta cada una de las cuajadas y se centrifuga a 2.800 rpm y a 37° durante 30 minutos. Con una trompa de aspiración se retira la fase del suero de la parte superior y se pesa la cuajada. Así se obtiene el parámetro rendimiento en cuajada: gramos/10 mL de leche (Caballero-Villalobos, 2016).



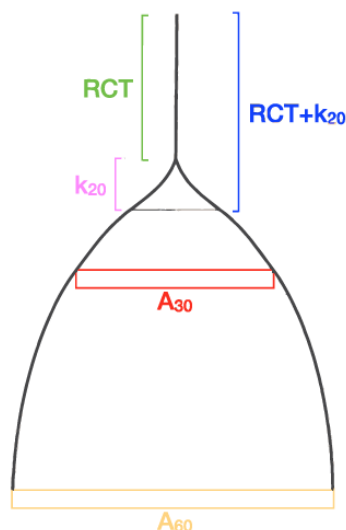


Figura 9. Diagrama de coagulación y dureza del coágulo recogida por el Formagraph (Caballero-Villalobos, 2016).

### 5.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

La información recopilada en las encuestas realizadas a las 77 ganaderías fue codificada en el programa Excel para Windows (Microsoft Corp., Redmond, WA, USA), y se establecieron las medias y frecuencias de distribución de los resultados.

Los resultados de las características físico-químicas, colorimétricas, higiénico-sanitarias (microbiológicas y recuento de células somáticas) y tecnológicas de las 308 muestras de leche de tanque han sido tratados mediante el Programa Estadístico SAS (SAS INSTITUTE INC, 2011. Versión 9.3). Los recuentos microbiológicos y de células somáticas se han transformado en logaritmos decimales para disponer de una distribución normal (Ali y Shook, 1980). Asimismo, se han agrupado las muestras de leche de tanque en cuatro grupos de coagulación, que han sido definidos en base a los criterios establecidos en la **Tabla 9**, para completar el estudio de las características tecnológicas de la leche del Capítulo 9.

**Tabla 9. Clasificación de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de su comportamiento en la coagulación.**

	NÚMERO DE MUESTRAS	TIEMPO DE COAGULACIÓN	DUREZA DEL COÁGULO
GRUPO 1	58	RCT<30 minutos	A30>A60
GRUPO 2	78	RCT<30 minutos	A30<A60
GRUPO 3	172	RCT>30 minutos	A30<A60
GRUPO 4	0	RCT>30 minutos	A30>A60

RCT= tiempo de coagulación, A<sub>30</sub>= dureza del coágulo a los 30 minutos, A<sub>60</sub>= dureza del coágulo a los 60 minutos.

Se han realizado los siguientes procedimientos estadísticos a los resultados analíticos de las muestras de leche de tanque:

- ☛ **PROC MEANS** para obtener los estadísticos generales de tendencia central y de dispersión de los parámetros estudiados: media, desviación estándar (DE), coeficiente de variación (CV), percentiles 25, 50 y 75 e intervalos de confianza (95%).
- ☛ **PROC FREQ** para el estudio de frecuencias de los diferentes parámetros.
- ☛ **PROC CORR**, para estudiar el grado de asociación entre ellos, mediante correlaciones de Spearman entre los parámetros físico-químicos, colorimétricos, higiénico-sanitarios y tecnológicos de la leche de tanque.

De forma específica para cada Capítulo, a continuación se detallan el resto de procedimientos estadísticos:

#### 5.6.1. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS Y COLORIMÉTRICAS (CAPÍTULO 7).

- ☛ **PROC GLM** para analizar los factores: estación del año de toma de muestra de leche de tanque, ganadería perteneciente (o no) a la Asociación Nacional de Criadores de Ganado Ovino Selecto de Raza Manchega (AGRAMA), producción media por oveja y año de la ganadería, y factores relacionados con la alimentación de las ovejas de ordeño, sobre los parámetros físico-químicos (grasa, proteína, extracto seco, caseína, lactosa, relación proteína/extracto seco, relación caseína/grasa urea, pH e índices colorimétricos (L, a\*, b\*)), mediante el siguiente modelo.

**Modelo I:**

$$Y_{ijklmno} = \mu + EA_i + AGR_j + PMOA_k + LA_l + TA_m + SP_n + FO_o + e_{ijklmno}$$

Siendo:

$Y_{ijklmno}$  = variable estudiada (físico-químicas e índices colorimétricos)

$\mu$  = media general.

$EA_i$  = efecto fijo de la estación del año (4 niveles: primavera, verano, otoño, invierno).

$AGR_j$  = efecto fijo de la pertenencia a AGRAMA (2 niveles: pertenece AGRAMA; no pertenece a AGRAMA).

$PMOA_k$  = efecto fijo de la producción media por oveja y año (2 niveles:  $PMOAB \leq 133$  litros/oveja/año,  $PMOAA > 133$  litros/oveja/año).


$LA_l$  = efecto fijo de la aplicación de lotes de alimentación para las ovejas de ordeño (2 niveles: LtS= aplica lotes; LtN= no aplica lotes).

$TA_m$ = efecto fijo del tipo de alimentación para las ovejas de ordeño (3 niveles:  $TA_{UC}$ = unifeed comercial;  $TA_{UP}$ = unifeed elaborado en la propia explotación;  $TA_{MFC}$ = mezcla de forraje y concentrado).


$SP_n$ = efecto fijo de la utilización de subproductos (2 niveles:  $SpS$ = utiliza subproductos;  $SpN$ = no utiliza subproductos).

$FO_o$ = efecto fijo del tipo de forraje utilizado (2 niveles:  $FoH$ = forraje henificado;  $FoE$ = forraje ensilado).

$e_{ijklmno}$ = efecto residual.

 **PROC CORRESP (Correspondencias)** entre las características físico-químicas, colorimétricas, la estación del año y los sistemas de alimentación de la oveja Manchega. Para ello se realizaron dos variables categóricas (inferior y superior al percentil 50) para las características físico-químicas y colorimétricas de la leche de tanque. El análisis de correspondencias es una técnica exploratoria diseñada para la representación gráfica, en 2 o más dimensiones, de las relaciones entre las categorías existentes de cada variable considerada. En nuestro caso se utilizaron dos dimensiones, ya que se observó que era con las que se obtenían mejor asociación entre variables. Además, la técnica es capaz de determinar la distancia media entre dos puntos, siendo dichos puntos los valores de las categorías correspondientes a cada variable considerada. La proximidad de los puntos entre sí indica el nivel de solidez en la asociación, lo que significa que cuanto más cerca están los puntos entre sí, mayor es la asociación entre ellos.

### 5.6.2. CARACTERÍSTICAS HIGIÉNICO-SANITARIAS (CAPÍTULO 8).

 **PROC GLM** para analizar factores relacionados con las prácticas de manejo general (Modelo II), higiénicas (Modelo III) y sanitarias (Modelo IV) de las ganaderías sobre los recuentos microbiológicos (mesófilos totales, psicrotrofos, termodúricos, *Pseudomonas* spp., *Escherichia coli*, otros coliformes distintos de *Escherichia coli*, bacterias ácido lácticas, cocos gram-positivos catalasa-negativos, esporas butíricas, estafilococos coagulasa positivos y coagulasa negativos) y el recuento de células somáticas de la leche de tanque (RCST). Los factores que se han tenido en cuenta son aquellos que proveen suficiente información para explicar las diferencias en cuanto al manejo general, condiciones higiénicas y sanitarias.

#### Modelo II:

El modelo de manejo general analiza los factores: estación del año de toma de muestra de leche de tanque, ganadería perteneciente (o no) a AGRAMA, producción media por oveja y año de la ganadería, y factores relacionados con la alimentación de las ovejas de ordeño y las condiciones

higiénicas del alojamiento de las ovejas de ordeño sobre los recuentos microbianos y el RCST. El modelo II planteado ha sido:

$$Y_{ijklmnop} = \mu + EA_i + AGR_j + PMOA_k + LA_l + TA_m + SP_n + FO_o + HALOJ_p + e_{ijklmnop}$$

Siendo:

$Y_{ijklmnop}$  = variable estudiada (recuentos microbiológicos generales y diferenciales, y logRCST)

$\mu$  = media general.

$EA_i$  = efecto fijo de la estación del año (4 niveles: primavera, verano, otoño, invierno).

$AGR_j$  = efecto fijo de la pertenencia a AGRAMA (2 niveles: pertenece AGRAMA; no pertenece a AGRAMA).

$PMOA_k$  = efecto fijo de la producción media por oveja y año (2 niveles:  $PMOAB \leq 133$  litros/oveja/año,  $PMOAA > 133$  litros/oveja/año).

$LA_l$  = efecto fijo de la aplicación de lotes de alimentación para las ovejas de ordeño (2 niveles:  $LtS$ = aplica lotes;  $LtN$ = no aplica lotes).

$TA_m$  = efecto fijo del tipo de alimentación para las ovejas de ordeño (3 niveles:  $TaUC$ = unifeed comercial;  $TaUP$ = unifeed elaborado en la propia explotación;  $TaMFC$ = mezcla de forraje y concentrado).

$SP_n$  = efecto fijo de la utilización de subproductos (2 niveles:  $SpS$ = utiliza subproductos;  $SpN$ = no utiliza subproductos).

$FO_o$  = efecto fijo del tipo de forraje utilizado (2 niveles:  $FoH$ = forraje henificado;  $FoE$ = forraje ensilado).

$HALOJ_p$  = efecto fijo de la higiene del alojamiento (2 niveles:  $HalojD$ = higiene deficiente,  $HalojB$ = higiene buena)

$e_{ijklmnop}$  = efecto residual.

### Modelo III:

El modelo de manejo higiénico analiza los factores: estación, el efecto del tipo de línea de la sala de ordeño, número de puestos para las ovejas de ordeño, aplicación del corte de vacío previa retirada de pezoneras, tipo de tanque de conservación de la leche, condición higiénica de sala de ordeño y lechería, aplicación de un protocolo específico de limpieza de sala de ordeño y lechería y frecuencia en la revisión de la maquinaria de sala de ordeño y lechería sobre los recuentos microbianos y el RCST. El modelo III planteado ha sido:

$$Y_{ijklmnop} = \mu + EA_i + LSO_j + PSO_k + CVAC_l + TANQUE_m + HSO_n + LIMP_o + REV_p + e_{ijklmnop}$$

Siendo:

$Y_{ijklmnop}$  = variable estudiada (recuentos microbiológicos generales y diferenciales, y logRCST)

$\mu$  = media general.

$EA_i$  = efecto fijo de la estación del año (4 niveles: primavera, verano, otoño e invierno).

$LSO_j$  = efecto fijo del tipo de línea de la sala de ordeño (2 niveles: LsoA= línea alta; LsoB= línea baja).

$PSO_k$  = efecto fijo del número de puestos de la sala de ordeño (3 niveles: Pso1=  $\leq 20$  puestos; Pso2= 20-36 puestos; Pso3=  $\geq 36$  puestos).

$CVAC_l$  = efecto fijo de la aplicación del corte de vacío previa retirada de pezoneras (2 niveles: CvacS= aplica; CvacN= no aplica).

$TANQUE_m$  = efecto fijo del tipo de tanque de conservación de la leche (2 niveles: TanqueA= abierto, TanqueC= cerrado).

$HSO_n$  = efecto fijo de la condición higiénica de sala de ordeño y lechería (2 niveles: HsoD= deficiente; HsoB= buena).

$LIMP_o$  = efecto fijo de la aplicación de protocolo específico de limpieza (2 niveles: LimpS= aplica; LimpN= no aplica).

$REV_p$  = efecto fijo en la frecuencia en la revisión de la maquinaria general (RevS= anual, RevN= ninguna).

$e_{ijklmnop}$  = efecto residual.

#### Modelo IV:

El modelo de manejo sanitario analiza los factores: el efecto de la aplicación de plan de vacunación frente a infecciones intramamarias, el tipo de tratamiento de secado aplicado a las ovejas al final del periodo de lactación y el tipo de desinfección de pezones post-ordeño sobre los recuentos microbianos y el RCST. El modelo IV planteado ha sido:

$$Y_{ijkl} = \mu + EA_i + VMA_j + TS_k + DP_l + e_{ijkl}.$$

Siendo:

$Y_{ijkl}$  = variable estudiada (recuentos microbiológicos generales y diferenciales, y logRCST).

$\mu$  = media general.

$EA_i$  = efecto fijo de la estación del año (4 niveles: primavera, verano, otoño, invierno).

$VMA_j$  = efecto fijo de la aplicación plan de vacunación frente a mastitis (2 niveles:  $VmaS$ = aplica,  $VmaN$ = no aplica).

$TS_k$  = efecto fijo del tipo de tratamiento de secado (3 niveles:  $TsN$ = no aplica,  $TsSG$ = secado tipo general y  $TsSS$ = secado tipo selectivo).

$DP_L$  = efecto fijo de la desinfección post-ordeño de pezones (3 niveles:  $DpSS$ = realiza en cada ordeño,  $DpSE$ = realiza esporádicamente,  $DpN$ = no realiza).

$e_{ijkl}$  = efecto residual.

☼ **PROC CORRESP (Correspondencias)** entre los diferentes grupos microbianos, RCST, y distintos factores de variación relacionados con el manejo general, condiciones higiénicas y sanitarias de las ganaderías de raza ovina Manchega. Para el recuento de mesófilos totales, se han establecido dos variables categóricas: inferior y superior al rango de 500.000 ufc/mL establecido en el Reglamento (CE) 853/2004. Para el resto de grupo de gérmenes se establecen también dos variables categóricas: inferior y superior al percentil 50.

### 5.6.3. CARACTERÍSTICAS DE COAGULACIÓN DE LA LECHE (CAPÍTULO 9).

☼ **PROC GLM** para analizar los factores: estación del año de toma de muestra de leche de tanque, características físico-químicas (percentiles de grasa, proteína total, caseína total, lactosa, urea y pH), microbiológicas (percentiles del recuento de mesófilos, termodúricos, psicrotrofos, *Pseudomonas* spp., coliformes totales, bacterias ácido lácticas, cocos gram-positivos catalasa-negativos, esporas butíricas, estafilococos totales) y el recuento de células somáticas sobre las características tecnológicas de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega estudiadas. El modelo V planteado ha sido:

**Modelo V:**

$$Y_{ijklmnopqrstuvwxyz} = \mu + EA_i + G_j + Pt_k + Ct_l + La_m + U_n + pH_o + MESO_p + TERMO_q + PSICRO_r + PSEUDO_s + COLIT_t + BAL_u + CGPCN_w + BAB_x + SC_y + RCST_z + e_{ijklmnopqrstuvwxyz}$$

Siendo:

$Y_{ijklmnopqrstuvwxyz}$  = variable estudiada (características tecnológicas de la leche de tanque).

$\mu$  = media general.

$EA_i$  = efecto fijo de la estación del año (4 niveles: primavera, verano, otoño, invierno).

$G_j$  = efecto fijo del contenido en grasa (4 niveles:  $G_1 < 7,32\%$ ,  $G_2 = 7,32-7,79\%$ ,  $G_3 = 7,80-8,35\%$ ,  $G_4 > 8,35\%$ ).

$Pt_k$  = efecto fijo del contenido en proteína total (4 niveles:  $Pt_1 < 5,70\%$ ,  $Pt_2 = 5,70-5,96\%$ ,  $Pt_3 = 5,97-6,34\%$ ,  $Pt_4 > 6,34\%$ ).

$Ct_l$  = efecto fijo del contenido en caseína total (4 niveles:  $Ct_1 < 4,55\%$ ,  $Ct_2 = 4,55-4,76\%$ ,  $Ct_3 = 4,77-5,04\%$ ,  $Ct_4 > 5,04\%$ ).

$La_m$  = efecto fijo del contenido en lactosa (4 niveles:  $La_1 < 4,48\%$ ,  $La_2 = 4,48-4,64\%$ ,  $La_3 = 4,65-4,79\%$ ,  $La_4 > 4,79\%$ ).

$U_n$  = efecto fijo del contenido en urea (4 niveles:  $U_1 < 398$  mg/L,  $U_2 = 398-478$  mg/L,  $U_3 = 479-567$  mg/L,  $U_4 > 567$  mg/L).

$pH_o$  = efecto fijo del pH (4 niveles:  $pH_1 < 6,56$ ,  $pH_2 = 6,56-6,63$ ,  $pH_3 = 6,63-6,69$ ,  $pH_4 > 6,69$ ).

$MESO_p$  = efecto fijo del recuento de mesófilos totales (4 niveles:  $MESO_1 < 5,15$  ufc/mL,  $MESO_2 = 5,15-5,57$  ufc/mL,  $MESO_3 = 5,58-6,18$  ufc/mL,  $MESO_4 > 6,18$  ufc/mL).

$TERMO_q$  = efecto fijo del recuento de termoduricos (4 niveles:  $TERMO_1 < 2,69$  ufc/mL,  $TERMO_2 = 2,69-3,14$  ufc/mL,  $TERMO_3 = 3,15-3,73$  ufc/mL,  $TERMO_4 > 3,73$  ufc/mL).

$PSICRO_r$  = efecto fijo del recuento de psicrotrofos (4 niveles:  $PSICRO_1 < 4,57$  ufc/mL,  $PSICRO_2 = 4,57-5,22$  ufc/mL,  $PSICRO_3 = 5,23-6,02$  ufc/mL,  $PSICRO_4 > 6,02$  ufc/mL).

$PSEUDO_s$  = efecto fijo del recuento de *Pseudomonas* spp. (4 niveles:  $PSEUDO_1 < 2,65$  ufc/mL,  $PSEUDO_2 = 2,65-3,14$  ufc/mL,  $PSEUDO_3 = 3,15-3,72$  ufc/mL,  $PSEUDO_4 > 3,72$  ufc/mL).

$COLIT_t$  = efecto fijo del recuento de coliformes totales (4 niveles:  $COLIT_1 < 2,59$  ufc/mL,  $COLIT_2 = 2,59-3,15$  ufc/mL,  $COLIT_3 = 3,16-3,81$  ufc/mL,  $COLIT_4 > 3,81$  ufc/mL).

$BAL_u$  = efecto fijo del recuento bacterias ácido lácticas (4 niveles:  $BAL_1 < 4,31$  ufc/mL,  $BAL_2 = 4,31-4,94$  ufc/mL,  $BAL_3 = 4,95-5,40$  ufc/mL,  $BAL_4 > 5,40$  ufc/mL).

$CGPCN_w$  = efecto fijo del recuento de cocos gram-positivos catalasa-negativos (4 niveles:  $CGPCN_1 < 3,53$  ufc/mL,  $CGPCN_2 = 3,53-4,18$  ufc/mL,  $CGPCN_3 = 4,19-4,82$  ufc/mL,  $CGPCN_4 > 4,82$  ufc/mL).

$BAB_x$  = efecto fijo del recuento esporas butíricas (4 niveles:  $BAB_1 < 2,96$  esporas/L,  $BAB_2 = 2,96-3,36$  esporas/L,  $BAB_3 = 3,37-3,63$  esporas/L,  $BAB_4 > 3,63$  esporas/L).

$SC_v$  = efecto fijo del recuento de estafilococos totales (4 niveles:  $SC_1 < 4,15$  ufc/mL,  $SC_2 = 4,15-4,33$  ufc/mL,  $SC_3 = 4,34-4,60$  ufc/mL,  $SC_4 > 4,60$  ufc/mL).

$RCST_z$  = efecto fijo del recuento de células somáticas totales (4 niveles:  $RCST < 5,88$  cel/mL,  $RCST = 5,88-6,03$  cel/mL,  $RCST = 6,04-6,17$ ,  $RCST > 6,17$  cel/mL).

$\epsilon_{ijklmnopqrstuvwxyz}$  = efecto residual.

☞ **PROC CORRESP (Correspondencias)** entre las características tecnológicas, y las principales características físico-químicas, microbiológicas y el recuento de células somáticas de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega. Para ello se realizaron dos variables categóricas (inferior y superior al percentil 50) para las características físico-químicas, colorimétricas, microbiológicas y el recuento de células somáticas de la leche de tanque, excepto para el recuento de mesófilos totales, donde se han establecido dos variables categóricas: inferior y superior al rango de 500.000 ufc/mL establecido en el Reglamento (CE) 853/2004.

☞ **PROC REG STREPSWISE (Regresión)** para las variables dependientes tiempo de coagulación (RCT), tiempo de endurecimiento de la cuajada ( $K_{20}$ ), dureza del coágulo a los 30 minutos ( $A_{30}$ ), dureza del coágulo a los 60 minutos ( $A_{60}$ ) y rendimiento de la cuajada (RCUA), incluyéndose como variables independientes los siguientes parámetros físico-químicos (grasa, proteína total, caseína total, relación proteína total/extracto seco, relación caseína total/grasa y pH), recuento de gérmenes (mesófilos, termodúricos, psicrotrofos, *Pseudomonas* spp., coliformes totales, bacterias ácido lácticas, cocos gram-positivos catalasa-negativos, esporas butíricas y estafilococos totales).



# PARTE IV

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN





# CAPÍTULO 6

## CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS GANADERÍAS





## CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS GANADERÍAS.

Las ganaderías estudiadas están ubicadas en la región natural de la Mancha e inscritas en la Denominación de Origen Protegida Queso Manchego (DOP). El sistema ovino Manchego está ampliamente descrito por Caballero (2009), Toro-Mújica y cols. (2011), Morante (2014) y Rivas y cols. (2015, 2019a, 2019b), entre otros. Dichos autores justifican la dimensión como uno de los factores de mayor relevancia en la clasificación de sistemas. A continuación se exponen las características técnicas, estructurales y productivas de acuerdo a la estratificación propuesta en la metodología.

Las características de estas ganaderías de raza ovina Manchega se exponen a continuación (**Tabla 10**), clasificándolas por tamaño censal meramente a efectos expositivos y para una mejor comprensión. La **Tabla 10.1.** muestra la distribución de ganaderías según el tamaño de explotación, producción y características demográficas. La **Tabla 10.2.** recoge la distribución de ganaderías según condiciones de alojamientos y equipamiento. La **Tabla 10.3.** muestra la distribución de ganaderías en función del manejo de la alimentación. La **Tabla 10.4.** reúne la distribución de ganaderías en función del manejo de la reproducción. Las **Tabla 10.5.** muestra la distribución de ganaderías en función de aspectos relacionados con el ordeño y conservación de la leche. Por último, la **Tabla 10.6.** recoge la distribución de ganaderías en función de los aspectos relacionados con la sanidad mamaria.

### GANADERÍAS GRUPO I (Censo < 600 ovejas).

#### **a. Características generales de la explotación.**

Este grupo se compone de 32 explotaciones (42% del total de la muestra). Se trata de pequeñas unidades productivas, con una media de 418 ovejas y una producción media de 58.217 litros al año. El 59% de los rebaños registraron unas producciones iguales o inferiores a 133 litros por oveja y año (Percentil 50). En este grupo sólo el 16% de las explotaciones pertenecen a la Asociación Nacional de Criadores de Ganado Ovino Selecto de Raza Manchega (AGRAMA). En el 28% de estas ganaderías coexiste la cría de ganado caprino junto al ovino.

Únicamente en el 12% de las ganaderías hay trabajadores de ambos sexos. En el 69% de ellas ganaderías la mano de obra es propietario-familiar, con una media de edad superior a 55 años en el 53% de los casos, y manifestando sólo el 10% haber cursado estudios secundarios/universitarios. El 66% de los encuestados expresan su intención de continuar con la ganadería, al menos, durante más de 5 años, con una baja esperanza de relevo generacional, ya que sólo el 28% de ellos muestran asegurado este relevo.



**b. Características estructurales.**

Estas ganaderías tienen una superficie media de 721 Ha. destinada al uso ganadero (suma de superficie propia destinada al ganado y de pastos comunales). La superficie destinada a instalaciones para el ganado (naves, almacén, henil, etc.) es de 732 m<sup>2</sup>. Respecto a la evaluación visual del estado higiénico del alojamiento de las ovejas de ordeño (estructural, mobiliario y cama), debemos señalar que el 84% fue definido como deficiente. Por otro lado, el 72% de estas explotaciones tienen acceso a línea eléctrica, y el 66% a suministro de agua de pozo.

**c. Manejo de la alimentación.**

La alimentación en pesebre de las ovejas de ordeño se basa en concentrado y forraje henificado en el 66% de las ganaderías. También utilizan habitual o esporádicamente subproductos húmedos en un 32% de las ganaderías. Las ganaderías de este grupo se caracterizan por realizar lotes de alimentación por nivel productivo-reproductivo de las ovejas de ordeño en el 12% de los casos, y ninguna de ellas dispone de cintas de alimentación para el ganado. El pastoreo es una práctica habitual, realizándolo el 97% de las ganaderías de este grupo.

**d. Manejo reproductivo.**

El índice reproductivo (nº partos año/nº ovejas reproductoras) en las ganaderías del Grupo I es de 1,12 y el intervalo entre partos es de 337 días, con 3-4 parideras al año en el 75% de los casos. El amamantamiento se realiza durante 35 días de media. El periodo medio de ordeño es de 113 días, en un rango entre los 90 y 160 días. El 44% de las ganaderías incluidas en este grupo establecen los 10 meses como edad mínima de cubrición en corderas, y en el 53% de ella se cubren más jóvenes. La tasa de desvieje en estas ganaderías pequeñas se sitúa en el 17%, una tasa media de reposición del 26%, con una vida media de la oveja productora de 7 años.

**e. Aspectos higiénico-sanitarios de la producción y conservación de la leche.**

La sala de ordeño y lechería están netamente separadas de otras instalaciones de la ganadería en el 81% de los casos. Están construidas con materiales de fácil limpieza en el 69% de los casos, aunque el estado higiénico de la instalación se evaluó como deficiente en el 72% de las explotaciones. Sólo el 22% de los ganaderos declaran disponer de un protocolo de limpieza de sala de ordeño y lechería (uso de detergente, periodicidad de utilización de detergentes alcalinos/ácidos, etc.).

La sala de ordeño, de tipo Casse, instalada en las ganaderías del Grupo I, es mayoritariamente de línea baja (71%), entre 12 y 36 puestos de ordeño. El número de personas encargadas del ordeño es de 1-2 personas en el 93% de los casos. El 66% de los encuestados manifiestan que realizan corte de vacío previo a la retirada de pezoneras.

El tanque de refrigeración tiene un rango de capacidad entre 150 y 1.600 litros, de tipo abierto en todas las ganaderías estudiadas.

La revisión de la maquinaria de la sala de ordeño y de los tanques de refrigeración de la leche es efectuada de una forma periódicamente concertada por un 38% de las explotaciones encuestadas.

El destino de la leche de las ganaderías del Grupo I es en su totalidad a industria láctea externa, siendo de 2 días la frecuencia media de recogida de la leche en el 97% de las explotaciones.

#### **f. Aspectos relativos a la sanidad mamaria.**

La mayoría de los encuestados (78%) indicaron porcentajes de mastitis clínica entre el 1-5%, no aplicando ningún protocolo de vacunación frente a mastitis en el 76% de ellas. En la mayoría de las explotaciones no se realiza ningún tipo de tratamiento farmacológico de secado en sus animales (75%).

La desinfección post-ordeño es una práctica habitual sólo en el 31% de las ganaderías pequeñas, mediante pulverización o baño de pezones con desinfectantes tipo yodóforos o alternancia clorhexidina/yodóforos.

### **GANADERÍAS DEL GRUPO II (censo entre 600-1.200 ovejas).**

#### **a. Características generales de la explotación.**

Este grupo está compuesto por 25 explotaciones (32% del total de la muestra), de las cuales el 44% pertenecen a AGRAMA. Su tamaño medio censal es de 853 ovejas, con una producción media de 133.664 litros de leche al año, con un 60% de las explotaciones con producciones superiores a 133 litros por oveja y año (P50). Sólo 6 de estas ganaderías mantienen también ganado caprino.

Como en el grupo anterior, sólo en el 12% de las ganaderías hay trabajadores de ambos sexos, siendo la edad media de estos de entre 30 y 55 años en el 64% de los casos. En este grupo la mano de obra propietario-familiar se complementa con empleados en el 56% de los casos. El 36% de los encuestados manifiestan haber cursado estudios secundarios o universitarios. El 64% aseguró la intención de continuar con la actividad más de 5 años y el 52% además manifestó asegurado el relevo generacional.

#### **b. Características estructurales.**

Esta tipología de explotación posee una superficie media de 860 Ha destinadas al uso ganadero (suma de superficie propia destinada al ganado y de pastos comunales). La superficie de las instalaciones para el ganado (naves, almacén, henil, etc.) es de 1.497 m<sup>2</sup>. En lo referente a la evaluación de los aspectos higiénicos de los alojamientos de las ovejas de ordeño, los resultados son

muy similares a los del Grupo I, con un 80% de las ganaderías calificadas con higiene deficiente. El 56% de las explotaciones tienen acceso a la línea eléctrica y un 88% suministro de agua de pozo.

#### **c. Manejo de la alimentación.**

El tipo de alimentación de las ovejas de ordeño es también muy tradicional, ya que prácticamente el 56% utilizan mezclas de forraje y concentrado, con forraje henificado, haciendo uso además el 57% de ellas de subproductos húmedos en la ración. En este grupo ya realizan lotes de alimentación por producción en el 39% de los casos, aunque sólo el 20% de ellas disponen de tecnologías (cintas de alimentación, etc.) para facilitar el reparto del alimento. Además, el 100% de las explotaciones pertenecientes a este grupo realizan pastoreo.

#### **d. Manejo reproductivo.**

El índice reproductivo alcanza un 1,17 de valor medio, siendo el intervalo entre partos de 323 días, con 3-4 parideras al año en el 68% de los casos. El amamantamiento tiene una duración media de 33 días. El periodo medio de ordeño es de 127 días, dentro de un rango de entre 110 y 160 días. El 28% de las ganaderías en este grupo establecen la edad de cubrición de las corderas por desarrollo corporal, el porcentaje más alto entre los grupos de ganaderías señalados. La tasa de desvieje en estas ganaderías de tamaño medio es del 20%, con una tasa media de reposición del 27% y una vida media de la oveja productora también de 7 años.

#### **e. Aspectos higiénico-sanitarios de la producción y conservación de la leche.**

En las ganaderías del Grupo II, la sala de ordeño y lechería están separadas de otras instalaciones en el 92% de los casos, y están construidas con materiales de fácil limpieza en el 68% de ellas. El 56% de los ganaderos declaran que siguen un protocolo de limpieza, aunque la evaluación de las condiciones higiénicas de estas instalaciones se ha considerado deficiente en el 64% de las explotaciones.

El tipo de la sala de ordeño instalada (línea alta y baja) presenta similar proporción en este grupo de ganaderías, con 24 y 36 puestos de ordeño en el 52% de los casos. El número de personas encargadas del ordeño es de más de dos en el 32% de los casos. Los encuestados manifiestan realizar corte de vacío antes de retirar las pezoneras en el 80% de los casos.

El 92% de las explotaciones del Grupo II disponen de tanque de refrigeración de la leche de tipo abierto, con una capacidad de hasta 1.600 litros en el 96% de los casos.

La revisión de la maquinaria de la sala de ordeño y de los tanques de refrigeración de la leche es efectuada de una forma periódicamente concertada por un 48% de las explotaciones encuestadas.

El destino de la leche de las ganaderías del Grupo II es un 88% a la industria láctea externa, siendo de 2 días la frecuencia media de recogida de la leche de la explotación en el 92% de los casos.



**f. Aspectos relativos a la sanidad mamaria.**

El 76% de los ganaderos del Grupo II manifiestan un porcentaje de mamitis clínica anual entre el 1-5%, sin que en la mayoría de las ganaderías se tenga establecido un protocolo de actuación frente a esta enfermedad (72%).

La desinfección post-ordeño es una práctica que se realiza en el 84% de estas ganaderías, mediante pulverización o baño de pezones con desinfectantes tipo yodóforos o alternancia clorhexidina/yodóforos.

El 64% de las explotaciones no utiliza ningún tipo de tratamiento farmacológico de secado en sus animales.

**GANADERÍAS GRUPO III (censo  $\geq$  1.200 ovejas).****a. Datos generales de la explotación.**

El Grupo III está compuesto por 20 explotaciones (26% del total de la muestra), de las que el 55% pertenecen a AGRAMA. Su tamaño medio censal es de 2.162 ovejas, con una producción media anual de leche es de 314.757 litros, registrando el 70% de las ganaderías unas producciones superiores a los 133 litros por oveja y año (P50). Sólo en 2 de ellas coexiste ganado caprino además del ovino.

En el 50% de las ganaderías de este grupo hay trabajadores de ambos sexos. El 75% de la mano de obra es asalariada, y el 55% de las personas que trabajan en la ganadería tienen entre 30-55 años. El 65% de los titulares de las ganaderías de este grupo tienen estudios secundarios o universitarios, manifestando la intención de continuar con la ganadería en el 75% de los casos, aunque sólo un 30% declara tener asegurado el relevo generacional en esta actividad.

**b. Datos estructurales.**

En este grupo se encuentran las explotaciones con mayor superficie destinada a uso ganadero, registrándose valores medios de 2.507 Ha, y también con mayor superficie destinada a instalaciones para el ganado (naves, almacén, henil, etc.), con una media de 3.347 m<sup>2</sup>. La higiene de los alojamientos para el ganado de este grupo (estructura, mobiliario y cama) ha sido calificada como deficiente en el 70% de los casos. En el 90% de las explotaciones hay acceso a línea eléctrica y un 80% tiene suministro de agua de pozo.

**c. Manejo de la alimentación.**

El tipo de alimentación de las ovejas de ordeño es mayoritariamente unifeed, elaborado en la propia ganadería (45%) o comercial (30%), utilizando forraje ensilado en el 40% de los casos y subproductos húmedos en el 50% de las ganaderías. Estas explotaciones, por su tamaño censal, realizan en mayor medida (85%) lotes de alimentación en función del nivel productivo de las ovejas, disponiendo de

cintas de alimentación en un 25% de los casos. Asimismo, el 90% de las explotaciones pertenecientes a este grupo realizan pastoreo.

#### **d. Manejo reproductivo.**

El índice reproductivo alcanza un valor medio de 1,05, con un intervalo entre partos de 356 días, y con 6 parideras al año en el 50% de los casos. El amamantamiento tiene una duración de 30 días de media. El periodo de ordeño medio es de 132 días. El 60% de las ganaderías en este grupo cubren a las corderas con menos de 10 meses de edad. La tasa de desvieje en estas ganaderías grandes se sitúa en una media del 18%, con una tasa media de reposición del 27% y una vida media de la oveja productora también de 7 años.

#### **e. Aspectos higiénico-sanitarios de la leche.**

Sala de ordeño y lechería tienen separación neta del resto de dependencias de la explotación en todas las ganaderías de este grupo, estando construidas con materiales de fácil limpieza en el 85% de los casos. El 70% de los ganaderos encuestados siguen un protocolo de limpieza de sala y lechería (uso de detergente, periodicidad de utilización de detergentes alcalinos/ácidos, etc.). La calificación de las condiciones higiénicas de estas dependencias es calificada como buena en el 65% de las ganaderías.

La tipología de la sala de ordeño instalada es de línea alta en el 60% de los casos, con 40 a 48 puestos de ordeño en el 75% de las ganaderías. El número de personas encargadas del ordeño es de más de dos en el 95% de los casos. El 85% de los encuestados manifiestan realizar corte de vacío previo a la retirada de pezoneras.

La capacidad del tanque de refrigeración de la leche se sitúa en un rango entre 1.800-8.000 litros en el 55% de los casos, siendo de tipo cerrado en el 60% de las ganaderías de este grupo.

La revisión de la maquinaria de la sala de ordeño y de los tanques de refrigeración de la leche se realiza periódicamente, de forma concertada con la empresa especializada, en un 65% de las explotaciones encuestadas.

El destino de la leche de las ganaderías grandes es la industria láctea externa en un 65% de los casos, y en un 35% para quesería propia.

#### **f. Aspectos relativos a la sanidad mamaria.**

La mayoría de los ganaderos encuestados también señalaron un porcentaje de mamitis clínica anual en las explotaciones entre el 1-5%. En la mayoría de las ganaderías no se aplica ningún protocolo de actuación frente a esta enfermedad (75%).

La desinfección post-ordeño es una práctica presente en el 80% de estas explotaciones, mediante pulverización o baño de pezones, con el uso de yodóforos en el 81% de las explotaciones.

El 55% de las explotaciones efectúa algún tipo de tratamiento farmacológico de secado en sus animales, siendo selectivo sólo en el 10% de ellas.

### **ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS GRUPOS DE GANADERÍAS ESTUDIADAS.**

Las ganaderías de ovino lechero de raza Manchega han experimentado una gran evolución en las últimas décadas. Las principales transformaciones han sido el incremento del tamaño del rebaño, que prácticamente triplica la media citada por Pérez-Guzmán y cols. (2002) para ganaderías de ovino Manchego, y el haber duplicado la producción media de leche citada por Caballero (2001). A todo esto se une un descenso en el número de ganaderos de explotaciones pequeñas que continúa en la actividad ganadera (MAPA, 2019), que ya se pone de manifiesto en el trabajo de Rivas (2014) y que explicaría la mayor proporción de explotaciones superiores a las 600 ovejas (grupos II y III con el 58%) de este estudio. El incremento experimentado en los últimos años en el tamaño medio de las explotaciones ovinas de leche ha permitido aprovechar la economía de escalas y las ventajas en términos de costos que obtiene una empresa gracias a su expansión, siendo un pilar clave para el mantenimiento y desarrollo de las explotaciones (Montoro y cols., 2007a).

Las explotaciones se han especializado en la producción de leche, siendo en la actualidad el principal objetivo de mejora de las ganaderías del Esquema de Selección de la oveja Manchega (Programa de Mejora de la Raza Ovina Manchega, 2011). Esto ha implicado la aportación de mayores requisitos técnicos, mecánicos y de instalaciones, tendencia que ha sido señalada en estudios anteriores de Montoro y cols. (2007ab), Riedel y cols. (2007) y Rivas (2014). Los cambios en los aspectos relacionados con la alimentación, con una combinación de pastoreo y suplementación en pesebre, y en los aspectos reproductivos, con una mayor planificación de las parideras, hace que se alcancen mejores niveles productivos (Riedel y cols., 2007).

Las explotaciones del grupo I aún presentan diversas deficiencias técnicas, estructurales y de organización que comprometen su futuro. Son explotaciones en su mayoría de tipo familiar y con baja tasa de relevo generacional, donde el propietario posee una edad por encima de los 55 años, superior a los 42 años de media señalados por Pérez-Guzmán y cols. (2002) en ganaderías acogidas a la DOP Queso Manchego, y que estaría asociado con un mayor envejecimiento y abandono de las explotaciones. Poseen escasa superficie agrícola, por lo que en su mayoría, el suplemento de la alimentación es externo a la explotación, siendo así el grupo con mayor dependencia de insumos externos. Se lleva a cabo un manejo más tradicional de la alimentación, combinándose el pastoreo anual, en áreas arrendadas de diferente índole, con la suplementación en pesebre, basada en el uso de mezcla de forraje henificado y concentrado, lo que coincide con la tipología I de pequeñas explotaciones familiares señalada por Rivas y cols. (2015). El manejo reproductivo en este grupo es el mismo que se citaba en Torres y cols. (1994), sin haber prácticamente una actualización hacia las

nuevas prácticas reproductivas, dato relevante si se tiene en cuenta que este grupo es el que registra el menor porcentaje de explotaciones inscritas en AGRAMA. Desde el punto de vista higiénico-sanitario las instalaciones/maquinaria dedicadas al ordeño son calificadas en su mayoría como deficientes, con una escasa aplicación de protocolos de limpieza y revisión de la maquinaria/tanque de ordeño, lo que se asociaría a una deficiente calidad bacteriológica de la leche (Carloni y cols., 2015). En cuanto a la sanidad mamaria, destaca la escasa práctica de la desinfección de pezones y las terapias de secado al final de lactación.

Las explotaciones pertenecientes al grupo II poseen mejores estrategias técnicas y organizativas que las del grupo I, aunque presentan deficiencias en aspectos de alimentación, reproducción e higiénico-sanitarios que podrían mejorarse si se comparan con las del grupo III. Son explotaciones en las que existe el mismo porcentaje de mano de obra familiar y asalariada, donde el propietario posee una edad media de 42 años, y en las que el relevo generacional posee el mayor porcentaje entre los tres grupos de explotaciones estudiadas. El manejo de la alimentación sigue siendo muy tradicional, aunque con menor dependencia de los insumos externos que las explotaciones del grupo I, utilizando las mezclas de concentrado y forraje henificado en su mayoría, incluyendo además subproductos húmedos en las raciones. Aunque el porcentaje de pertenencia a AGRAMA es superior al grupo I, presentan escasa mejora en los resultados productivos y reproductivos, ya que no tienen un adecuado nivel tecnológico. Desde el punto de vista higiénico-sanitario, tanto los alojamientos del ganado como las dependencias dedicadas al ordeño presentan deficiencias en la limpieza, a pesar de registrarse el uso de protocolos de limpieza en la mayoría de las explotaciones del grupo, lo que evidenciaría una incorrecta aplicación de las mismas. En cuanto a la sanidad del rebaño, no aplican de forma sistemática la desinfección de pezones, ni ninguna terapia de secado al finalizar la lactación.

Por último, en el grupo III las explotaciones combinan la actividad ganadera con la agrícola, manteniendo un carácter pastoril unido a una mejora tecnológica, organizativa y financiera, similar a las explotaciones mixtas tecnificadas descritas por Rivas y cols. (2015). Se trata de explotaciones en las que la mano de obra es mayoritariamente asalariada, con una edad media del propietario también de 42 años y en la que la intención de relevo generacional es menor que en el grupo II. Destaca un manejo de la alimentación más tecnificado, que lleva a la mayoría de las explotaciones a elaborar su propio unifeed, con la adición complementaria de forraje tipo ensilado y subproductos propios de la zona. La pertenencia a AGRAMA de la mayoría de las explotaciones se manifiesta en la mejora de los ritmos reproductivos, mejora en la planificación de las parideras e incremento del nivel productivo de los animales (Jurado y cols., 1997). Además, las dependencias dedicadas al ordeño se han calificado como buenas desde el punto de vista higiénico-sanitario, lo que es debido a una mejor aplicación de los protocolos de limpieza. El interés por la aplicación de desinfección post-ordeño de los animales y terapias de secado en los animales es también significativo en esta tipología.

**RESUMEN**

- 👤 Las ganaderías de oveja Manchega han experimentado una importante evolución, con un aumento del tamaño censal y una especialización en la producción lechera, aunque con diferencias en las características productivas y de manejo, particularmente en la alimentación.
- 👤 Desde una óptica exclusivamente productivista, parece que la eficiencia de las ganaderías de ovino manchego aumenta con el tamaño de explotación, con una mayor implantación de tecnologías, aunque con un futuro incierto al verse comprometido el relevo generacional.

**SUMMARY**

- 👤 Manchega sheep' farms have undergone an important development, with an increase of farm size and specialization in dairy production, although differences in production and management characteristics, mainly in feeding management.
- 👤 From a productive point of view, it seems that the efficiency of Manchego sheep farms increases with farm size, with a greater use of technologies, but an uncertain future as the generational relief is compromised.

Tabla 10. Distribución de las ganaderías estudiadas en función de su tamaño censal.

Tabla 10.1. Distribución de ganaderías según tamaño de explotación, producción y características demográficas.

DESCRIPTOR	GANADERÍAS		
Censo (número de ovejas/ganadería)	GRUPO I<600	GRUPO II=600-1.200	GRUPO III>1.200
Ganaderías encuestadas <sup>1</sup>	32 (42%)	25 (32%)	20 (26%)
Especies mantenidas en la ganadería <sup>1</sup>	Sólo ovino	23 (72%)	19 (76%)
	Coexiste ovino y caprino	9 (28%)	6 (24%)
Producción leche de oveja ganadería/año <sup>2</sup>	58.217 (11.250-150.000)	133.664 (65.000-220.100)	314.757 (50.000-729.000)
Producción leche por oveja/año <sup>1</sup>	≤133 litros	19 (59%)	10 (40%)
	>133 litros	13 (41%)	15 (60%)
Pertenencia a AGRAMA <sup>1</sup>	NO	27 (84%)	14 (56%)
	SI	5 (16%)	11 (44%)
Género de los trabajadores <sup>1</sup>	Hombre	28 (88%)	22 (88%)
	Mixto	4 (12%)	3 (12%)
Edad del responsable de la ganadería encuestado <sup>1</sup>	<30 años	1 (3%)	3 (12%)
	Entre 30 y 55 años	14 (44%)	16 (64%)
	>55 años	17 (53%)	6 (24%)
Relación de los trabajadores con el titular de la ganadería <sup>1</sup>	Propietario-Familiar	22 (69%)	5 (20%)
	Empleado	4 (12%)	6 (24%)
	Mixto	6 (19%)	14 (56%)
Estudios del responsable de la ganadería <sup>1</sup>	Básicos/ primarios	28 (90%)	16 (64%)
	Secundarios /universitarios	4 (10%)	9 (36%)
Continuidad de la ganadería <sup>1</sup>	NO	8 (25%)	8 (32%)
	SI (>5 años)	21 (66%)	16 (64%)
	NS/NC <sup>3</sup>	3 (9%)	1 (4%)
Relevo generacional <sup>1</sup>	Continuación por hijos	9 (28%)	13 (52%)
	No continuación por hijos	12 (38%)	7 (28%)
	ns/nc	11 (34%)	5 (20%)

<sup>1</sup>: n (%); <sup>2</sup>: media (rango); <sup>3</sup>: No sabe/no contesta.

Tabla 10.2. Distribución de ganaderías según condiciones de alojamientos y equipamiento.

DESCRIPTOR	GANADERÍAS		
	GRUPO I<600	GRUPO II=600-1.200	GRUPO III>1.200
Censo (número de ovejas/ganadería)	721 (40-3.000)	860 (10-1.960)	2.507 (100-12.000)
Superficie de uso ganadero (Ha) <sup>2</sup>	732 (300-1.500)	1.497 (400-3.500)	3.347 (1.100-8.500)
Superficie alojamientos para el ganado (m <sup>2</sup> ) <sup>2</sup>			
Higiene del alojamiento <sup>1</sup>	Deficiente	20 (80%)	14 (70%)
	Buena	5 (20%)	6 (30%)
Energía eléctrica en la explotación <sup>1</sup>	Línea eléctrica	14 (56%)	18 (90%)
	Generador	11 (44%)	2 (10%)
Agua en la explotación <sup>1</sup>	Red	2 (8%)	4 (20%)
	Pozo	22 (92%)	16 (80%)
	No respondida	1	0
	2	1	0

<sup>1</sup>: n (%); <sup>2</sup>: media (rango).

Tabla 10.3. Distribución de ganaderías en función del manejo de la alimentación.

DESCRIPTOR		GANADERÍAS		
Censo (número de ovejas/ganadería)		GRUPO I<600	GRUPO II=600-1.200	GRUPO III>1.200
Tipo de alimentación ovejas de ordeño <sup>1</sup>	Unifeed comercial (TauC)	11 (34%)	11 (44%)	6 (30%)
	Unifeed propio (TauP)	0 (0%)	0 (0%)	9 (45%)
	Mezcla forraje y concentrado (TaMFC)	21 (66%)	14 (56%)	5 (25%)
Tipo de forraje <sup>1</sup>	Henificado	32 (100%)	25 (100%)	12 (60%)
	Ensilado	0	0	8 (40%)
Uso de subproductos <sup>1</sup>	No	21 (68%)	11 (43%)	10 (50%)
	Si	11 (32%)	14 (57%)	10 (50%)
Realización de lotes de alimentación <sup>1</sup>	No	28 (88%)	15 (61%)	3 (15%)
	Si	4 (12%)	10 (39%)	17 (85%)
Cintas de alimentación <sup>1</sup>	No	32 (100%)	20 (80%)	15 (75%)
	Si	0 (0%)	5 (20%)	5 (25%)
Pastoreo	Si realiza	31 (97%)	25 (100%)	18 (90%)
	No realiza	1 (3%)	0 (0%)	2 (10%)

<sup>1</sup>: n (%); <sup>2</sup>: media (rango).



Tabla 10.4. Distribución de ganaderías en función del manejo de la reproducción.

GANADERÍAS			
DESCRIPTOR	GRUPO I<600	GRUPO II=600-1.200	GRUPO III>1.200
Censo (número de ovejas/ganadería)			
Índice reproductivo <sup>2</sup>	1,12 (0,79-1,56)	1,17 (0,77-1,71)	1,05 (0,77-1,53)
Intervalo entre partos (días) <sup>2</sup>	337 (233-461)	323 (212-472)	356 (238-476)
Periodo de amamantamiento (días) <sup>2</sup>	35 (20-45)	33 (2-45)	30 (1-40)
Numero de parideras al año <sup>1</sup>	Continua	3 (12%)	0 (0%)
	3	6 (24%)	2 (10%)
	4	11 (44%)	4 (20%)
	5	2 (8%)	4 (20%)
	6	3 (12%)	10 (50%)
Periodo de ordeño (días) <sup>2</sup>	113 (90-160)	127 (110-160)	132 (110-160)
Tasa de reposición (%) <sup>2</sup>	26 (11-50)	27 (20-40)	27 (15-36)
Tasa de desvieje (%) <sup>2</sup>	17 (8-31)	20 (6-41)	18 (10-30)
Vida de la oveja (años) <sup>2</sup>	7 (5-10)	7 (5-10)	7 (5-8)
Edad de la primera cubrición (meses) <sup>1</sup>	≤10	14 (56%)	12 (60%)
	>10	4 (16%)	5 (25%)
	Por desarrollo corporal	7 (28%)	3 (15%)

1: n (%); 2: media (rango).

Tabla 10.5. Distribución de ganaderías en función de aspectos relacionados con el ordeño y conservación de la leche.

DESCRIPTOR		GANADERÍAS		
Censo (número de ovejas/ganadería)		GRUPO I<600	GRUPO II=600-1.200	GRUPO III>1.200
Sala de ordeño y lechería separadas de alojamientos	Si	26 (81%)	23 (92%)	20 (100%)
	No	6 (19%)	2 (8%)	0 (0%)
Material de sala y lechería	Fácil limpieza	22 (69%)	17 (68%)	17 (85%)
	Difícil limpieza	10 (31%)	8 (32%)	3 (15%)
Protocolo de limpieza de sala de ordeño y lechería	Si	7 (22%)	14 (56%)	14 (70%)
	No	25 (78%)	11 (44%)	6 (30%)
Higiene sala de ordeño y lechería	Deficiente	23 (72%)	16 (64%)	7 (35%)
	Buena	9 (28%)	9 (36%)	13 (65%)
Tipo de línea de la sala de ordeño	Alta	9 (29%)	13 (50%)	12 (60%)
	Baja	22 (71%)	13 (50%)	8 (40%)
Puestos de ordeño en sala	De 12 a 20	17 (53%)	3 (12%)	0 (0%)
	De 24 a 36	15 (47%)	13 (52%)	5 (25%)
	De 40 a 48	0 (0%)	9 (36%)	15 (75%)
Número de ordeñadores	1-2	30 (93%)	17 (68%)	1 (5%)
	≥2	2 (7%)	8 (32%)	19 (95%)
Corte de vacío previo a retirada de pezoneras	Si	21 (66%)	20 (80%)	17 (85%)
	No	11 (11%)	5 (20%)	3 (15%)

<sup>1</sup>: n (%); <sup>2</sup>: media (rango).

Tabla 10.5. (Continuación) Distribución de ganaderías en función de aspectos relacionados con el ordeño y conservación de la leche.

DESCRIPTOR		GANADERÍAS		
Censo (número de ovejas/ganadería)		GRUPO I<600	GRUPO II=600-1.200	GRUPO III>1.200
Número de tanques de refrigeración de la leche	1	21 (66%)	4 (16%)	9 (45%)
	2	10 (31%)	18 (72%)	8 (40%)
	3	1 (3%)	3 (12%)	3 (15%)
Tipo de tanque de refrigeración	Abierto	32 (100%)	23 (92%)	8 (40%)
	Cerrado	0 (0%)	2 (8%)	12 (60%)
Capacidad tanque de refrigeración	De 150 a 700	24 (75%)	11 (44%)	2 (10%)
	De 750 a 1.600	8 (25%)	13 (52%)	7 (35%)
	De 1.800 a 8.000	0 (0%)	1 (4%)	11 (55%)
Revisión maquinaria sala y lechería	Anual	12 (38%)	12 (48%)	13 (65%)
	No programada	20 (62)	13 (52%)	7 (35%)
Destino de la leche	Industria	32 (100%)	22 (88%)	13 (65%)
	Quesería Propia	0 (0%)	3 (12%)	7 (35%)
Frecuencia de recogida de la leche	Diaria	4 (13%)	2 (8%)	8 (40%)
	Cada 2 días	27 (84%)	23 (92%)	12 (60%)
	Cada 3 días	1 (3%)	0 (0%)	0 (0%)

1: n (%); 2: media (rango).

Tabla 10.6. Distribución de ganaderías en función de aspectos relacionados con la sanidad mamaria.

DESCRIPTOR		GANADERÍAS		
Censo (número de ovejas/ganadería)		GRUPO I<600	GRUPO II=600-1.200	GRUPO III>1.200
Mamitis clínica	1-5%	25 (78%)	19 (76%)	18 (90%)
	6-20%	5 (16%)	5 (20%)	1 (5%)
	ns/nc	2 (6%)	1 (4%)	1 (5%)
Protocolo de vacunación de mamitis	Si	7 (24%)	7 (28%)	5 (25%)
	No	25 (76%)	18 (72%)	15 (75%)
Protocolo de vacunación de Agalaxia contagiosa	Si	23 (74%)	24 (94%)	17 (85%)
	No	9 (26%)	1 (6%)	3 (15%)
Desinfección de pezones post-ordeño	Si realiza	10 (31%)	18 (72%)	10 (50%)
	Esporádica	12 (38%)	3 (12%)	6 (30%)
	No realiza	10 (31%)	4 (16%)	4 (20%)
Forma de desinfección de pezones post-ordeño	Pulverización	11 (50%)	13 (62%)	10 (62%)
	Baño	11 (50%)	8 (38%)	6 (38%)
Producto para desinfección de pezones post-ordeño	Uso de clorhexidina	1 (8%)	3 (14%)	1 (6%)
	Uso de yodóforos	6 (50%)	11 (52%)	13 (81%)
	Alternancia anteriores	5 (42%)	7 (33%)	2 (13%)
Tratamiento farmacológico de secado	Si	8 (25%)	9 (36%)	11 (55%)
	No	24 (75%)	16 (64%)	9 (45%)
Tipo de tratamiento farmacológico de secado	No realiza	24 (75%)	16 (64%)	10 (50%)
	General	6 (19%)	8 (32%)	8 (40%)
	Selectivo	2 (6%)	1 (4%)	2 (16%)

<sup>1</sup>: n (%); <sup>2</sup>: media (rango)

## CAPÍTULO 7

### ESTUDIO DE LA CALIDAD FÍSICO-QUÍMICA Y COLORIMÉTRICA DE LA LECHE DE TANQUE Y SU RELACIÓN CON LAS CARACTERÍSTICAS PRODUCTIVAS DE LA RAZA OVINA MANCHEGA.

#### CONTENIDOS

<b>7.1.</b> Descripción de las características físico-químicas y colorimétricas de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	<b>95</b>
<b>7.2.</b> Correlaciones entre las características físico-químicas y los índices colorimétricos de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	<b>102</b>
<b>7.3.</b> Factores de variación relacionados con las características generales de las ganaderías y con la estación del año, que afectan a las distintas características físico-químicas e índices colorimétricos en leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	<b>106</b>
<b>7.4.</b> Análisis de correspondencias entre las categorías de las distintas características físico-químicas e índices colorimétricos en leche de tanque y los factores relacionados con el sistema productivo de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	<b>122</b>



### 7.1. DESCRIPCIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS Y COLORIMÉTRICAS DE LECHE DE TANQUE DE LAS GANADERÍAS DE RAZA OVINA MANCHEGA.

Los estadísticos descriptivos de las características físico químicas y colorimétricas de la leche de tanque de las ganaderías de raza Manchega estudiadas se muestran en la **Tabla 11**.

**Tabla 11. Estadísticos descriptivos de las características físico-químicas y colorimétricas de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega (n=308).**

				PERCENTIL			IC 95%	
	Media	DS	CV	P25	P50	P75	Inferior	Superior
<b>FÍSICO-QUÍMICO<sup>1</sup></b>								
<b>G</b>	7,87	0,83	10,51	7,32	7,79	8,35	7,78	7,97
<b>Pt</b>	6,06	0,52	8,54	5,70	5,96	6,34	6,00	6,12
<b>Es</b>	19,40	1,17	6,05	18,57	19,22	20,26	19,27	19,54
<b>Ct</b>	4,83	0,41	8,59	4,55	4,76	5,04	4,78	4,87
<b>La</b>	4,61	0,24	5,29	4,48	4,64	4,79	4,58	4,63
<b>Pt/Es</b>	0,31	0,44	4,86	0,30	0,31	0,32	0,27	0,37
<b>Ct/G</b>	0,62	0,05	8,14	0,58	0,61	0,65	0,61	0,62
<b>U</b>	489,98	120,21	24,53	398,00	478,00	567,00	475,71	504,25
<b>pH</b>	6,61	0,15	2,22	6,56	6,63	6,69	6,60	6,63
<b>INDICES COLORIMÉTRICOS<sup>2</sup></b>								
<b>L*</b>	81,55	0,69	0,85	81,06	81,39	82,12	81,47	81,63
<b>a*</b>	-1,48	0,22	-14,44	-1,61	-1,47	-1,34	-1,50	-1,45
<b>b*</b>	8,47	0,78	9,18	8,00	8,43	9,03	8,38	8,56

DS= desviación estándar; CV= coeficiente de variación ; P (25,50 y 75): Percentiles 25, 50 y 75, respectivamente; IC 95%: intervalo de confianza al 95%; <sup>1</sup>G=% grasa, Pt=% proteína total, Es=% extracto seco, Ct=% caseína total, La=% lactosa, Pt/Es=proteína total/extracto seco, Ct/G= caseína total/grasa, U=urea (mg/L); <sup>2</sup>L\*= luminosidad, a\*= índice de rojo, b\*=índice de amarillo.

El contenido medio en grasa, proteína total, extracto seco y lactosa ha sido de 7,87%, 6,06%, 19,40% y 4,61%, respectivamente, y evidencia la riqueza de los principales componentes de la leche de tanque de la raza Manchega. Los valores medios se encuentran en la línea de los resultados obtenidos en otros estudios en leche de tanque en la misma raza (Arias, 2009), y son superiores a los señalados para razas foráneas de alta producción lechera, como la Assaf (6,65% de grasa y 5,4% de proteína) y la Lacaune (7,04% de grasa y 5,56% de proteína) (MAPA, 2019), o para otras razas autóctonas localizadas en el área Mediterránea (Pirisi y cols., 2000a; Martini y cols., 2008). Morand-Fehr y cols. (2007) indican que la composición de la leche depende de multitud de factores, entre los que cabe destacar: raza, nivel genético de los animales, sistema de manejo de la ganadería, características medioambientales, etc., que condicionan estas diferencias.

El mayor valor del coeficiente de variación (CV=10,51%) para grasa respecto al resto de los parámetros físico-químicos estaría relacionado con diversos factores, como la alimentación o con el nivel productivo de las ganaderías estudiadas. Pulina y cols., (2005) ya evidenciaron que la relación entre producción de leche y el contenido en grasa tiene mayor variabilidad que entre producción y

contenido en proteína, por lo que una modificación de la composición de la leche en función de la alimentación tendría mucho más efecto sobre la grasa que sobre la proteína. Cuanto mayor sea el contenido energético de la ración ofrecida, mayor será la producción de leche y menor su contenido en grasa (Morand-Fehr y cols., 2000). Además, la grasa también puede variar con la procedencia, calidad y cantidad de la fibra, y los carbohidratos de la ración (Pulina y cols., 2006; Sanz Sampelayo y cols., 2007). Asimismo, en la distribución de frecuencias (**Figura 10A**) se observa, que el mayor número de muestras (77,81%) tienen valores entre 6,51-8,50% de grasa, reafirmando que la leche de oveja es rica en este componente; sin embargo, se observa un 6,96% de muestras con un porcentaje en grasa  $\leq 6,5\%$ , límite estipulado por el Pliego de Condiciones de la Denominación de Origen para destinar la leche a la elaboración de Queso Manchego (Orden APA/3273/2007 y Reglamento de Ejecución (UE) 129/2012).

Las fracciones nitrogenadas, como se ha comentado, presentan valores altos de proteína total y extracto seco, siendo los que tradicionalmente y junto a la grasa, han sido utilizados para evaluar la calidad físico-química de la leche. En la distribución de frecuencias se observa que el 88,41% de las muestras tienen un porcentaje de proteína entre 5,00 y 6,50% (**Figura 10B**), y que el 82,11% de las muestras presentan unos porcentajes de extracto seco entre 17,51 y 20,50% (**Figura 10C**), no habiéndose encontrado muestras de leche por debajo del límite para proteína (4,50%) o para extracto seco (11%) estipulados por la DOP Queso Manchego.

En la actualidad los sistemas de control de la calidad tienen la posibilidad de analizar otros componentes nitrogenados, como la caseína o la urea, que han sido analizados en este estudio. El valor medio para caseína total, la relación caseína total/grasa y el contenido en urea han sido 4,83%, 0,62 y 490 mg/L, respectivamente. De entre ellos, el mayor nivel de variabilidad lo presenta la urea (CV=24,53%). El contenido en caseína total es similar al valor de 4,80% obtenido por Caballero-Villalobos y cols. (2018b), pero inferior al 5,18% indicado por Jaramillo (2007), ambos resultados obtenidos en leche individual de oveja Manchega. Para la leche de oveja Guirra se citan valores medios de 4,90% y de 5,16% en los estudios de Rodríguez y cols. (2002) y Jaramillo (2007), respectivamente. Otros autores señalan un contenido en caseína inferior, como el 4,20% indicado por Anifantakis y cols. (1980) en Grecia, o el 4,70% indicado por Matutinović y cols. (2014) para la raza autóctona Dalmatian Pramenka. En la distribución de frecuencias se aprecia que el 80,85% de las muestras presentan porcentajes de caseína total entre 4,01 y 5,00% (**Figura 10D**), en un rango entre 3,50 y 6,50%, superior al rango de otros estudios, como el de Sevi y cols. (2004), en leche de tanque de oveja Comisana (3,72-4,60%). La concentración de caseína total de la leche varía entre razas y entre individuos dentro de la misma raza, afectando a las características tecnológicas de leche (Alais, 1985; Casado y García, 1985; Coulon, 1998; Selvaggi y Tufarelli, 2012). El análisis de caseína total es importante para el sector, ya que la caseína es determinante en la formación de la estructura y en el mantenimiento de la estabilidad de la cuajada en la elaboración del queso, estando



relacionada con el rendimiento quesero (Pellegrini y cols., 1997), por lo que sería útil incluir también un límite para este parámetro en el Pliego de Condiciones de la DOP Queso Manchego.

Diversos estudios señalan la importancia de determinar la relación entre el contenido de caseína total y otros parámetros físico-químicos de la leche, ya que permite prever la calidad y rendimientos queseros. La relación caseína total/grasa es importante para estimar en conjunto las características de los dos parámetros más determinantes en la elaboración de productos lácteos y está directamente relacionada con el extracto seco del queso producido; así, se ha determinado para la raza Lacaune (0,59) y para otras razas italianas (0,63) (Wendorff, 2002, 2017), siendo similares a los resultados obtenidos en el presente estudio para la raza Manchega (0,62), con el mayor número de muestras (87,42%) en un rango comprendido entre 0,56 y 0,65 (**Figura 11A**).

Asimismo, el contenido en urea en leche de tanque es un parámetro que se analiza en los sistemas de control de la calidad de la leche desde hace pocos años. Es una determinación muy útil para monitorizar la ingesta de proteína de la ración y para evaluar la estrategia alimentaria, permitiendo conocer la tasa adecuada de nitrógeno de la ración y garantizar el buen funcionamiento del rumen (Martínez-Sanmiguel, 2018). En el presente estudio, el contenido de urea en leche de tanque ha sido de 490 mg/L, que se encuadra en el rango (340-550 mg/L) señalado por Sallato y cols., (2013), para considerar las raciones bien equilibradas. Sin embargo, los resultados de nuestro estudio tienen una gran variabilidad, que se debería a la heterogeneidad de las raciones utilizadas en las ganaderías estudiadas; así, en la distribución de frecuencias se observa que el 80,65% de las muestras se sitúan en valores entre 301 y 600 mg/L (**Figura 11B**), estando aproximadamente el 25,46% de las muestras por encima de 567 mg/L, considerado como elevado por Sallato y cols., (2013), lo que implicaría riesgos sanitarios por el exceso de acetato (mamitis, enterotoxemia, problemas de reproducción, alcalosis, problemas de aplomos, etc.) y disminución de la producción lechera. Los resultados obtenidos indicarían por tanto la conveniencia de incluir la evaluación de la tasa de urea en leche en los programas de aseguramiento de la calidad de la leche y de buenas prácticas de las ganaderías.

La lactosa, principal azúcar de la leche y regulador osmótico de ella, presenta una distribución de frecuencias (**Figura 10E**), en el que el mayor porcentaje de muestras (90,73%) se sitúa en valores entre 4,01 y 5,00%, dentro del rango entre 3,83 y 5,21% señalado por Park y cols. (2007) para leche de oveja. Se observa también que un 9,27% de las muestras de este estudio presenta unos valores  $\leq 4,00\%$ , considerados bajos para este parámetro y que podrían relacionarse con la presencia de infecciones intramamarias (Sevi y col. 1999a; Albenzio y cols., 2004).

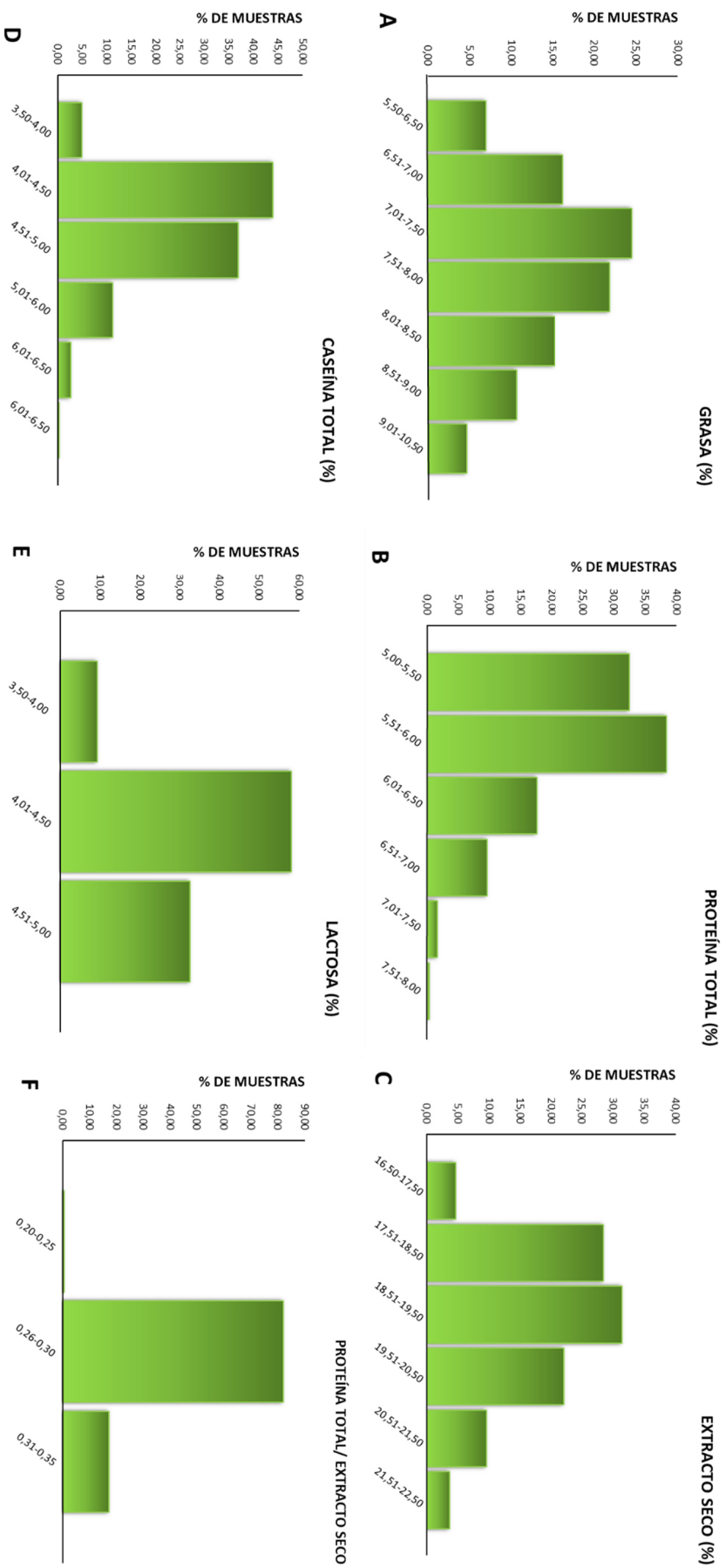


Figura 10. Frecuencia de distribución de grasa (A); proteína total (B); extracto seco (C); caseína total (D); lactosa (E); relación proteína total/extracto seco (F) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.

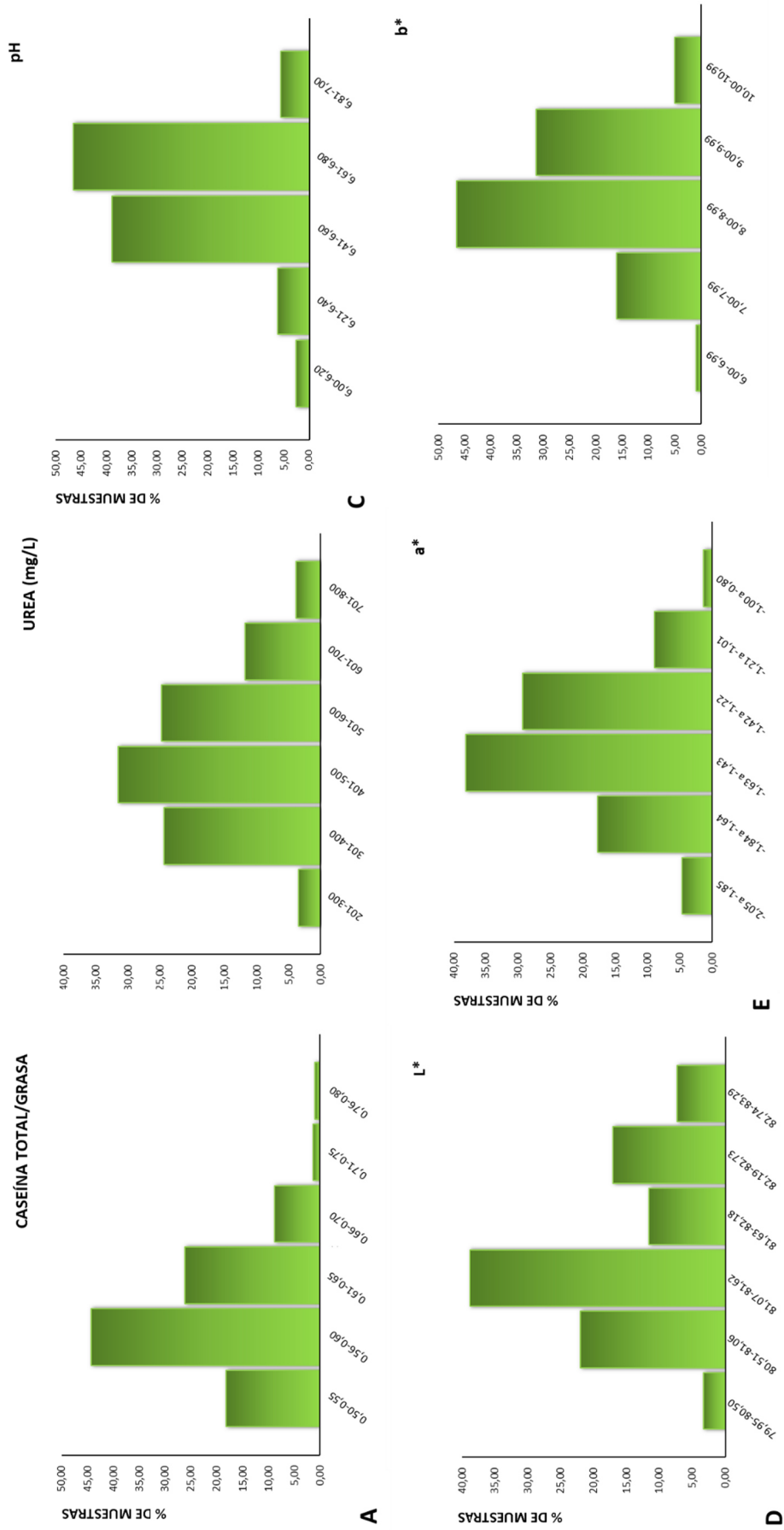


Figura 11. Frecuencia de distribución de la relación caseína total/grasa (A); urea (B); pH (C); luminosidad (L\* , D); índice de rojo (a\* , E); índice de amarillo (b\* , F) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.

Respecto al pH, que proporciona información sobre el estado higiénico-sanitario de la leche, en este estudio ha tenido un valor medio de 6,61, con la mayor concentración de muestras (85,47%) con valores entre 6,41 y 6,80 (**Figura 11C**), comprendidos en el rango entre 6,51-6,85 señalado por Haenlein y Wendorff (2006) para leche fresca. En nuestro estudio, un 17,49% de las muestras presentan valores para pH inferiores a 6,41, indicativo de la posible degradación microbiana de lactosa en ácido láctico o de la presencia de calostro (Romero y cols., 2013; Escolar, 2016).

Los índices colorimétricos son interesantes indicadores de calidad de la leche y productos lácteos (Ramírez-Navas, 2010). En el presente estudio presentan los siguientes valores medios: luminosidad ( $L^*$ ) = 81,55, índice de rojo ( $a^*$ ) = -1,48, índice de amarillo ( $b^*$ ) = 8,47, lo que indica que la leche de oveja Manchega tiene tendencia al blanco, verde y amarillo. En ovino no han sido descritos valores de referencia para los índices colorimétricos de la leche de tanque, y sólo se disponen de resultados de vacuno lechero (McDermott y cols., 2016) y en caprino lechero (Muelas y cols., 2017). En la distribución de frecuencias, se observa un rango de valores para el índice de luminosidad entre 79,95 y 83,29 (**Figura 11D**), con el 60,87% de las muestras entre 80,51 y 81,62, más similares a los rangos descritos para leche de vaca (81,40-81,57) por McDermott y cols. (2016), que a los de leche de cabra (85,68-87,90) descritos por Muelas y cols. (2017). De forma similar se comporta el índice de rojo, con valores en nuestro estudio entre 6,00 y 10,99, y con un 77,88% de las muestras en el rango entre 8,00 y 9,99, más similares a los de leche de vaca (7,48-10,03) (McDermott y cols., 2016), que a los de leche de cabra (4,79-6,10) (Muelas y cols., 2017). Respecto al índice de amarillo, nuestro estudio indica valores para leche de raza Manchega entre -2,05 y -0,80, con un 67,44% de las muestras entre -1,63 y -1,22, más similares en este caso a los rangos descritos por Muelas y cols. (2017) para leche de cabra (-1,40 y 1,04), que los resultados de McDermott y cols. (2016) para leche de vaca (-4,25 y 3,79). Estas diferencias estarían asociadas a la presencia en la leche de diferentes pigmentos (carotenoides, riboflavina y otras proteínas) (Nozière y cols., 2006b; Solah y cols., 2007; Mestdagh y cols., 2011), aunque el color también depende de la presencia de partículas coloidales (glóbulos grasos y micelas de caseínas), en particular por la dispersión de los glóbulos de grasa en la leche (García-Pérez y cols., 2005; Barlowska y cols., 2011).

**RESUMEN**

- 👤 Hay que destacar la riqueza de los principales componentes de la leche de tanque de raza Manchega obtenidos en este estudio, siendo la grasa la que presenta una mayor variación entre las ganaderías estudiadas.
- 👤 El estudio de parámetros como la caseína total y la urea, son de gran utilidad en la evaluación de la calidad de la leche; desde el punto de vista de la tecnología quesera y de la alimentación animal.
- 👤 El color de la leche de oveja Manchega tiene tendencia al blanco, verde y amarillo.

**SUMMARY**

- 👤 It is necessary to highlight the richness of the main components of Manchega bulk-tank milk obtained in this study, being the fat the one that presents the greatest variation among the studied farms.
- 👤 The study of parameters such as total casein and urea, is very useful for the assessment of milk quality, from both cheese technology and animal feeding points of view.
- 👤 The color of Manchega sheep' milk tends toward white, green and yellow.

## **7.2. CORRELACIONES ENTRE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS Y LOS ÍNDICES COLORIMÉTRICOS DE LECHE DE TANQUE DE LAS GANADERÍAS DE RAZA OVINA MANCHEGA.**

Las correlaciones entre las características físico-químicas y los índices colorimétricos de la leche de tanque del estudio se presentan en la **Tabla 12**.

Destacan las altas correlaciones positivas y significativas ( $p < 0,05$ ) entre grasa, extracto seco, proteína total y caseína total (en un rango entre 0,64 y 0,93). La lactosa presenta correlaciones negativas con el resto de parámetros estudiados, siendo moderadamente altas con extracto seco, proteína total, caseína total y grasa (en un rango entre -0,61 y -0,55). Estos resultados corroboran los datos obtenidos en otros estudios, tanto en vacuno (Emery, 1988), en leche de oveja Manchega (Ramón y cols., 2006; Arias, 2009) y en otras razas ovinas (Fuertes y cols., 1998; Barillet y cols., 2001; Legarra y Ugarte, 2001).

El contenido en urea presenta también correlaciones positivas con la gran mayoría de los componentes nitrogenados de la leche: proteína total ( $r = 0,40$ ;  $p < 0,001$ ), extracto seco ( $r = 0,32$ ;  $p < 0,001$ ) y caseína total ( $r = 0,36$ ;  $p < 0,001$ ). En vacuno lechero, Johnson y cols. (2003) señalan una relación negativa, y Godden y cols. (2001) obtienen una relación no lineal negativa entre la proteína de la leche y el contenido en urea, mientras que otros autores como Broderick y Clayton (1997) no encuentran relación entre ambos parámetros. Johnson y cols. (2003), señalan que éstos deben ser considerados en conjunto para determinar si las raciones están correctamente equilibradas y para ello establece unos rangos de urea en leche de vaca que permiten una mejor comprensión de la relación entre la urea y la proteína de la leche. En este sentido, en ovino lechero sería conveniente establecer los rangos de urea en la leche en función de la composición de las raciones y del nivel productivo de las ovejas de ordeño.

El pH de la leche muestra correlaciones positivas significativas, moderadas con extracto seco ( $r = 0,25$ ;  $p < 0,001$ ), proteína total ( $r = 0,27$ ;  $p < 0,001$ ) y urea ( $r = 0,28$ ;  $p < 0,001$ ), siendo menores las correlaciones con el resto de los parámetros (grasa y caseína total). Estos resultados están en la línea de la correlación entre pH y extracto seco ( $r = 0,23$ ;  $p < 0,01$ ) citada por Pavič y cols. (2002). También, Coulon y cols., (1991) describen un incremento del pH relacionado con una mayor concentración de los principales componentes de la leche, especialmente del contenido proteico que ejerce una acción tampón.

Además, la correlación entre pH y lactosa es significativa y negativa, aunque baja ( $r = -0,12$ ;  $p < 0,05$ ). Estos resultados están en la línea del estudio de Pavič y cols. (2002), en el que no se encuentran correlaciones significativas entre ambos parámetros. Sin embargo, Kuchtík y cols. (2008) indican una correlación positiva y significativa entre pH y lactosa ( $r = 0,29$ ;  $p < 0,001$ ) en leche de ovejas individuales, analizadas antes de cuatro horas tras su recogida. Así, parece que no existe una relación

clara entre ambos parámetros, posiblemente condicionado por otros factores: contenido microbiano, tipo de muestra de leche, etc.

En cuanto a las correlaciones con los índices colorimétricos, la luminosidad de la leche tiene correlación positiva y significativa ( $r=0,25$ ;  $p<0,001$ ) con el índice de rojo, no siendo significativa su correlación con el índice de amarillo (**Tabla 12**). Por su parte, existe correlación también positiva y significativa, aunque baja, entre los índices de rojo y amarillo.

Asimismo, el índice luminosidad de la leche mantiene correlaciones negativas y significativas con proteína total, extracto seco y caseína total, en rangos entre  $-0,24$  y  $-0,18$ . Las correlaciones son superiores con pH ( $r=-0,38$ ;  $p<0,001$ ) y con urea ( $r=-0,28$ ;  $p<0,001$ ). Por el contrario, la correlación es positiva con lactosa ( $r=0,12$ ;  $p<0,05$ ). No se ha obtenido correlación significativa entre luminosidad y grasa. [McDermott y cols. \(2016\)](#), en leche de vaca, señalan una correlación positiva entre el índice luminosidad y grasa, proteína total y caseína total, contrariamente a los resultados de este estudio. Ello se debería a las diferencias entre la leche de vacuno y ovino, no sólo desde el punto de vista de la composición físico-química, sino también de la diferente disposición/dispersión de las micelas de caseína y los glóbulos grasos, que sería la responsable de la refracción de la luz incidente, y que se relaciona con el índice de luminosidad ([Ratý y Peiponen, 1999](#)).

Las correlaciones del índice de rojo e índice de amarillo con los parámetros físico-químicos, guardan una tendencia similar entre sí. Son significativamente moderadas, positivas con grasa, proteína total, sólidos totales y caseína total, y negativas con lactosa. Por su parte estos parámetros de color no tienen correlaciones significativas con urea y pH. Existen diferencias en la tendencia de las correlaciones entre el índice de rojo y los principales componentes de la leche (grasa, proteína total y caseína total), siendo positivas en nuestro estudio y negativas para la leche de vaca del estudio de [McDermott y cols. \(2016\)](#). Esta circunstancia podría deberse al diferente contenido en carotenos ( $\beta$ -carotenos, luteína, etc.) de la leche de vacuno frente a la leche de ovino ([Prache y cols., 2005](#); [Kuhnen y cols., 2013](#)).

La existencia de relación entre los índices colorimétricos y la composición de la leche de oveja podría permitir el desarrollo de una herramienta de análisis sencilla para predecir la calidad físico-química a partir de estos índices.

**Tabla 12. Coeficientes de correlación entre las características físico-químicas y los índices colorimétricos de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.**

PARAMETROS <sup>1</sup>	G	Pt	Es	Ct	La	U	pH	L*	a*	b*
G	1	0,64***	0,93***	0,67***	-0,59***	0,24***	0,13*	-0,07 <sup>NS</sup>	0,42***	0,41***
Pt		1	0,81***	0,93***	-0,61***	0,40***	0,27***	-0,24***	0,32***	0,32***
Es			1	0,81***	-0,55***	0,32***	0,25***	-0,20***	0,31***	0,36***
Ct				1	-0,61***	0,36***	0,19**	-0,18**	0,35***	0,35***
La					1	-0,19**	-0,12*	0,12*	-0,40***	-0,43***
U						1	0,28***	-0,29***	-0,01 <sup>NS</sup>	0,03 <sup>NS</sup>
pH							1	-0,38***	-0,09 <sup>NS</sup>	-0,03 <sup>NS</sup>
L*								1	0,25***	0,11 <sup>NS</sup>
a*									1	0,12*
b*										1

<sup>1</sup>G= Grasa, Pt= Proteína total, Es= Extracto seco, Ct= Caseína total, La=lactosa, U=Urea, L\*=Luminosidad, a\*=índice de rojo, b\*=índice de amarillo, \*\*\*p<0,001; \*\*p<0,01; \*p<0,05; <sup>NS</sup>p>0,05



**RESUMEN**

- ☞ Entre los principales componentes de la leche de oveja Manchega (grasa, extracto seco, proteína total y caseína total) existen correlaciones significativas, altas y positivas, mientras que entre estos componentes y la lactosa las correlaciones son de signo negativo. El contenido en urea presenta correlaciones positivas con los principales componentes de la leche, sobre todo con la proteína total.
- ☞ La existencia de relación entre los índices colorimétricos y la composición de la leche de oveja podría permitir el desarrollo de una herramienta de análisis sencilla para predecir la calidad físico-química a partir de estos índices.

**SUMMARY**

- ☞ Among the main components of Manchega sheep's milk (fat, total solids, total protein and total casein) there are significant correlations, strong and positive, while between these components and lactose the correlations are negative. The urea content shows positive correlation with the main components of milk, especially with total protein.
- ☞ The existence of a relationship between the colorimetric indices and the composition of sheep's milk could allow the development of a simple analysis tool to predict the physico-chemical quality from these indices.

### **7.3. FACTORES DE VARIACIÓN RELACIONADOS CON LAS CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS GANADERÍAS Y CON LA ESTACIÓN DEL AÑO, QUE AFECTAN A LAS DISTINTAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E ÍNDICES COLORIMÉTRICOS EN LECHE DE TANQUE DE LAS GANADERÍAS DE RAZA OVINA MANCHEGA.**

El **Modelo Estadístico I** ha sido utilizado para determinar la influencia de distintos factores: estación del año, pertenencia a la Asociación Nacional de Criadores de Ganado Ovino Selecto de raza Manchega (AGRAMA), producción media de leche por oveja y año de cada ganadería (PMOA), uso de lotes de alimentación por nivel de producción de las ovejas de ordeño, tipo de alimentación de las ovejas de ordeño, uso de subproductos y tipo de forraje suministrados a las ovejas de ordeño, sobre las características físico-químicas y colorimétricas de la leche de tanque de las ganaderías de oveja Manchega estudiadas (**Tabla 13**). Los resultados medios de las características físico-químicas e índices colorimétricos respecto a los factores citados, se muestran en las **Tablas 14 y 15**, respectivamente.

#### **Estación del año.**

El factor **estación del año** de toma de muestra de la leche de tanque afecta significativamente ( $p<0,05$ ) a todas características físico-químicas y colorimétricas de la leche de oveja contempladas en este estudio. Cabe destacar la mayor varianza explicada de este factor para la luminosidad ( $L^*$ ), así como para proteína total y lactosa.

Los valores significativamente menores ( $p<0,05$ ) de grasa, proteína total, extracto seco, caseína total, proteína total/extracto seco, urea y pH se han obtenido en primavera y verano; por otro lado, la lactosa presenta los valores más altos en primavera y verano frente a los más bajos obtenidos en otoño e invierno (**Figura 12**). **Arias (2009)** menciona resultados similares en raza ovina Manchega, justificándola por la estacionalidad de la producción lechera, con producciones superiores en primavera y verano que en otoño e invierno, y que reitera el antagonismo entre producción y composición de la leche que ha sido comentada en diferentes estudios, como el de **Emery (1988)** ó **Pulina y cols. (2006)**. Los datos productivos de las ganaderías pertenecientes a la DOP Queso Manchego en los años del presente estudio corroboran el mencionado antagonismo en los resultados obtenidos en nuestro estudio, con unas producciones de 19 y 16 millones de litros de leche en las estaciones de primavera y verano, y unas producciones de 11 y 12 millones de litros de leche en las estaciones de otoño e invierno (**DOP Queso Manchego – Comunicación propia**).

Tabla 13. Valores de F (% de la varianza explicada) y nivel de significación de los factores de variación estudiados para las características físico-químicas y los índices colorimétricos de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.

PARÁMETROS <sup>1</sup>		FACTORES DE VARIACIÓN					
	Estación	AGRAMA	PMOA <sup>2</sup>	Lotes de alimentación	Tipo de Alimentación	Subproductos	Tipo de forraje
G	11,53 (11,02)***	5,36 (1,71)*	0,28 (0,09) <sup>NS</sup>	2,13 (0,68) <sup>NS</sup>	1,56 (0,99) <sup>NS</sup>	0,41 (0,13) <sup>NS</sup>	0,31 (0,10) <sup>NS</sup>
Pt	33,75 (24,92)***	0,65 (0,16) <sup>NS</sup>	7,52 (1,85)**	4,36 (1,07)*	0,01(0,01) <sup>NS</sup>	0,76 (0,19) <sup>NS</sup>	2,87 (0,71) <sup>NS</sup>
Es	25,57 (21,31)***	2,11 (0,59) <sup>NS</sup>	1,60 (0,44) <sup>NS</sup>	3,87 (1,08)*	1,74 (0,97) <sup>NS</sup>	0,48 (0,13) <sup>NS</sup>	0,28 (0,08) <sup>NS</sup>
Ct	21,26 (17,50)***	1,11 (0,31) <sup>NS</sup>	4,19 (1,15)*	4,56 (1,25)*	0,04 (0,02) <sup>NS</sup>	1,01 (0,28) <sup>NS</sup>	2,10 (0,58) <sup>NS</sup>
La	31,95 (22,97)***	14,38 (3,45)**	3,21 (0,77) <sup>NS</sup>	2,45 (0,59) <sup>NS</sup>	1,23 (0,59) <sup>NS</sup>	0,01 (0,01) <sup>NS</sup>	10,57 (2,53)*
Pt/Es	10,44 (9,58)***	0,19 (0,06) <sup>NS</sup>	7,92(2,42)**	0,67 (0,21) <sup>NS</sup>	2,79 (1,71) <sup>NS</sup>	0,25 (0,00) <sup>NS</sup>	11,81 (3,61)**
Ct/G	2,69 (2,91)*	3,53 (1,27) <sup>NS</sup>	2,03 (0,73) <sup>NS</sup>	0,01 (0,01) <sup>NS</sup>	2,39 (1,72) <sup>NS</sup>	0,08 (0,03) <sup>NS</sup>	4,68 (1,68)*
U	17,50 (17,21)***	3,79 (1,24) <sup>NS</sup>	1,64 (0,54) <sup>NS</sup>	0,26 (8,68) <sup>NS</sup>	0,03 (0,02) <sup>NS</sup>	7,59 (2,49)**	1,67 (0,55) <sup>NS</sup>
pH	22,99 (19,77)***	0,02 (0,01) <sup>NS</sup>	4,78 (1,37)*	3,76 (1,08) <sup>NS</sup>	2,80 (1,60) <sup>NS</sup>	0,29 (0,08) <sup>NS</sup>	1,55 (0,44) <sup>NS</sup>
L*	68,83 (44,11)***	0,40 (0,09) <sup>NS</sup>	0,01 (0,01) <sup>NS</sup>	0,13(0,03) <sup>NS</sup>	0,38 (0,16) <sup>NS</sup>	0,19 (0,04) <sup>NS</sup>	0,07 (0,02) <sup>NS</sup>
a*	11,12 (9,84)***	6,50 (1,92)*	1,57 (0,46) <sup>NS</sup>	0,47 (0,14) <sup>NS</sup>	0,29 (0,17) <sup>NS</sup>	0,96 (0,28) <sup>NS</sup>	4,87 (1,44)*
b*	2,84 (2,94)*	1,55 (0,53) <sup>NS</sup>	1,40 (0,49) <sup>NS</sup>	1,13 (0,39) <sup>NS</sup>	0,45 (0,31) <sup>NS</sup>	0,07 (0,03) <sup>NS</sup>	3,41 (1,18) <sup>NS</sup>

<sup>1</sup>G=Grasa, Pt=Proteína total, Es=Extracto seco, Ct=Caseína total, La=Lactosa, Pt/Es=Proteína total / Extracto seco, Ct/G=Caseína total/Grasa, U=Urea, L\*=Luminosidad, a\*=índice de rojo, b\*=índice de amarillo; <sup>2</sup>PMOA =producción media por oveja y año; \*\*\*p< 0,001, \*\*p<0,01, \*p<0,05, <sup>NS</sup>p>0,05.

Tabla 14. Media de mínimos cuadrados de las características físico-químicas de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega según la estación, pertenece (o no) a AGRAMA, la producción media por oveja y año, y la estrategia de alimentación.

CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS <sup>1</sup>										
	G	Pt	Es	Ct	La	Pt/Es	Ct/G	U	pH	
Estación										
Primavera	7,47±0,12 <sup>b</sup>	5,66±0,06 <sup>b</sup>	18,79±0,15 <sup>b</sup>	4,62±0,06 <sup>c</sup>	4,84±0,03 <sup>a</sup>	30,14±0,20 <sup>b</sup>	0,62±0,01 <sup>a</sup>	439±19,79 <sup>b</sup>	6,57±0,02 <sup>b</sup>	
Verano	7,56±0,12 <sup>b</sup>	5,72±0,06 <sup>b</sup>	18,75±0,15 <sup>b</sup>	4,56±0,05 <sup>c</sup>	4,72±0,03 <sup>a</sup>	30,51±0,21 <sup>b</sup>	0,60±0,01 <sup>b</sup>	478±16,55 <sup>b</sup>	6,58±0,02 <sup>b</sup>	
Otoño	8,11±0,11 <sup>a</sup>	6,21±0,06 <sup>a</sup>	19,91±0,15 <sup>a</sup>	5,00±0,05 <sup>a</sup>	4,51±0,03 <sup>c</sup>	31,15±0,20 <sup>a</sup>	0,62±0,01 <sup>a</sup>	560±16,35 <sup>a</sup>	6,69±0,02 <sup>a</sup>	
Invierno	7,99±0,12 <sup>a</sup>	6,20±0,06 <sup>a</sup>	19,79±0,15 <sup>a</sup>	4,79±0,05 <sup>b</sup>	4,70±0,03 <sup>b</sup>	31,33±0,21 <sup>a</sup>	0,60±0,01 <sup>b</sup>	564±16,55 <sup>a</sup>	6,71±0,02 <sup>a</sup>	
AGRAMA										
Pertenece	7,66±0,10 <sup>b</sup>	5,93±0,06 <sup>a</sup>	19,21±0,14 <sup>a</sup>	4,71±0,05 <sup>a</sup>	4,75±0,03 <sup>a</sup>	30,82±0,18 <sup>a</sup>	0,62±0,01 <sup>a</sup>	526±15,04 <sup>a</sup>	6,63±0,02 <sup>a</sup>	
No Pertenece	7,91±0,10 <sup>a</sup>	5,97±0,05 <sup>a</sup>	19,41±0,12 <sup>a</sup>	4,77±0,04 <sup>a</sup>	4,64±0,02 <sup>b</sup>	30,74±0,17 <sup>a</sup>	0,61±0,01 <sup>a</sup>	495±13,73 <sup>a</sup>	6,64±0,02 <sup>a</sup>	
PMOA <sup>2</sup>										
PMOAB	7,81±0,10 <sup>a</sup>	6,03±0,06 <sup>a</sup>	19,40±0,14 <sup>a</sup>	4,79±0,05 <sup>a</sup>	4,67±0,03 <sup>a</sup>	31,05±0,19 <sup>a</sup>	0,62±0,01 <sup>a</sup>	520±15,41 <sup>a</sup>	6,65±0,02 <sup>a</sup>	
PMOAA	7,75±0,09 <sup>a</sup>	5,87±0,05 <sup>b</sup>	19,22±0,12 <sup>a</sup>	4,69±0,04 <sup>b</sup>	4,72±0,02 <sup>a</sup>	30,51±0,17 <sup>b</sup>	0,61±0,01 <sup>a</sup>	500±13,32 <sup>a</sup>	6,62±0,02 <sup>b</sup>	
Lotes de alimentación										
Aplica	7,69±0,09 <sup>a</sup>	5,88±0,05 <sup>b</sup>	19,15±0,12 <sup>b</sup>	4,68±0,04 <sup>b</sup>	4,72±0,03 <sup>a</sup>	30,69±0,17 <sup>a</sup>	0,62±0,01 <sup>a</sup>	515±13,62 <sup>a</sup>	6,65±0,02 <sup>a</sup>	
No Aplica	7,87±0,11 <sup>a</sup>	6,02±0,06 <sup>a</sup>	19,47±0,15 <sup>a</sup>	4,81±0,05 <sup>a</sup>	4,67±0,03 <sup>a</sup>	30,87±0,20 <sup>a</sup>	0,61±0,01 <sup>a</sup>	506±16,40 <sup>a</sup>	6,61±0,02 <sup>a</sup>	
Tipo de alimentación <sup>3</sup>										
TaUC	7,95±0,15 <sup>a</sup>	5,95±0,08 <sup>a</sup>	19,55±0,20 <sup>a</sup>	4,76±0,07 <sup>a</sup>	4,73±0,04 <sup>a</sup>	30,37±0,27 <sup>a</sup>	0,60±0,01 <sup>a</sup>	513±21,93 <sup>a</sup>	6,66±0,02 <sup>a</sup>	
TaUP	7,53±0,16 <sup>a</sup>	5,95±0,09 <sup>a</sup>	18,96±0,21 <sup>a</sup>	4,73±0,07 <sup>a</sup>	4,63±0,04 <sup>a</sup>	31,36±0,28 <sup>a</sup>	0,63±0,01 <sup>a</sup>	505±22,44 <sup>a</sup>	6,63±0,03 <sup>a</sup>	
TaMFC	7,87±0,14 <sup>a</sup>	5,95±0,07 <sup>a</sup>	19,42±0,18 <sup>a</sup>	4,74±0,06 <sup>a</sup>	4,72±0,03 <sup>a</sup>	30,62±0,24 <sup>a</sup>	0,61±0,01 <sup>a</sup>	513±19,51 <sup>a</sup>	6,62±0,02 <sup>a</sup>	
Subproductos										
Utiliza	7,75±0,10 <sup>a</sup>	5,93±0,05 <sup>a</sup>	19,26±0,13 <sup>a</sup>	4,72±0,05 <sup>a</sup>	4,70±0,02 <sup>a</sup>	30,74±0,17 <sup>a</sup>	0,61±0,01 <sup>a</sup>	531±13,85 <sup>a</sup>	6,64±0,02 <sup>a</sup>	
No utiliza	7,82±0,10 <sup>a</sup>	5,97±0,05 <sup>a</sup>	19,35±0,13 <sup>a</sup>	4,77±0,05 <sup>a</sup>	4,69±0,03 <sup>a</sup>	30,83±0,18 <sup>a</sup>	0,61±0,01 <sup>a</sup>	490±14,43 <sup>b</sup>	6,63±0,02 <sup>a</sup>	
Tipo de forraje										
Henificado	7,71±0,10 <sup>a</sup>	6,06±0,05 <sup>a</sup>	19,22±0,12 <sup>a</sup>	4,83±0,04 <sup>a</sup>	4,59±0,02 <sup>b</sup>	31,57±0,16 <sup>a</sup>	0,63±0,01 <sup>a</sup>	487±13,02 <sup>a</sup>	6,61±0,02 <sup>a</sup>	
Ensilado	7,85±0,20 <sup>a</sup>	5,83±0,11 <sup>a</sup>	19,40±0,26 <sup>a</sup>	4,66±0,09 <sup>a</sup>	4,80±0,05 <sup>a</sup>	30,00±0,35 <sup>b</sup>	0,59±0,01 <sup>b</sup>	533±27,89 <sup>a</sup>	6,66±0,03 <sup>a</sup>	

<sup>1</sup> G=% Grasa, Pt=% Proteína total, Es=% Extracto seco, Ct=% Caseína total, La=% Lactosa, Pt/Es=Proteína total / Extracto seco, Ct/G=Caseína total/Grasa, U=Urea (mg/L); <sup>2</sup>PMOA= producción media por oveja y año (PMOAB < 133 litros/oveja/año, PMOAA ≥ 133 litros/oveja/año); <sup>3</sup> TaUC: Unifeed comercial, TaUP: Unifeed propio, TaMFC: Mezcla de forraje y concentrado; **superíndices distintos a, b, c: p<0,05.**

**Tabla 15. Media de mínimos cuadrados de los índices colorimétricos de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega según la estación, pertenece (o no) a AGRAMA, la producción media por oveja y año, y la estrategia de alimentación.**

	ÍNDICES COLORIMÉTRICOS <sup>1</sup>		
	L*	a*	b*
<b>Estación</b>			
Primavera	81,76±0,08 <sup>a</sup>	-1,55±0,03 <sup>b</sup>	8,35±0,11 <sup>a</sup>
Verano	82,20±0,08 <sup>a</sup>	-1,52±0,03 <sup>a</sup>	8,46±0,11 <sup>a</sup>
Otoño	81,09±0,08 <sup>c</sup>	-1,47±0,04 <sup>a</sup>	8,30±0,11 <sup>a</sup>
Invierno	81,17±0,08 <sup>b</sup>	-1,66±0,03 <sup>c</sup>	8,11±0,11 <sup>b</sup>
<b>AGRAMA</b>			
Pertenece	81,58±0,07 <sup>a</sup>	-1,59±0,03 <sup>b</sup>	8,24±0,10 <sup>a</sup>
No pertenece	81,54±0,06 <sup>a</sup>	-1,51±0,02 <sup>a</sup>	8,37±0,09 <sup>a</sup>
<b>PMOA<sup>2</sup></b>			
PMOAB	81,56±0,07 <sup>a</sup>	-1,54±0,03 <sup>a</sup>	8,37±0,10 <sup>a</sup>
PMOAA	81,55±0,06 <sup>a</sup>	-1,57±0,02 <sup>a</sup>	8,25±0,09 <sup>a</sup>
<b>Lotes de alimentación</b>			
Aplica	81,54±0,06 <sup>a</sup>	-1,57±0,02 <sup>a</sup>	8,25±0,09 <sup>a</sup>
No Aplica	81,57±0,08 <sup>a</sup>	-1,54±0,03 <sup>a</sup>	8,37±0,10 <sup>a</sup>
<b>Tipo De Alimentación<sup>3</sup></b>			
TaUC	81,55±0,10 <sup>a</sup>	-1,54±0,04 <sup>a</sup>	8,22±0,14 <sup>a</sup>
TaUP	81,62±0,10 <sup>a</sup>	-1,56±0,04 <sup>a</sup>	8,40±0,15 <sup>a</sup>
TaMFC	81,50±0,09 <sup>a</sup>	-1,55±0,04 <sup>a</sup>	8,30±0,13 <sup>a</sup>
<b>Subproductos</b>			
Utiliza	81,54±0,07 <sup>a</sup>	-1,57±0,02 <sup>a</sup>	8,29±0,09 <sup>a</sup>
No utiliza	81,57±0,07 <sup>a</sup>	-1,54±0,03 <sup>a</sup>	8,32±0,09 <sup>a</sup>
<b>Tipo de forraje</b>			
Henificado	81,58±0,06 <sup>a</sup>	-1,48±0,02 <sup>a</sup>	8,53±0,09 <sup>a</sup>
Ensilado	81,53±0,13 <sup>a</sup>	-1,63±0,05 <sup>b</sup>	8,29±0,18 <sup>a</sup>

\*=Luminosidad, a\*=índice de rojo, b\*=índice de amarillo; <sup>2</sup> PMOA= producción media por oveja y año (PMOAB < 133 litros/oveja/año, PMOAA ≥ 133 litros/oveja/año); <sup>3</sup> TaUC: Unifeed comercial, TaUP: Unifeed propio, TaMFC: Mezcla de forraje y concentrado; **superíndices distintos a, b, c: p<0,05.**

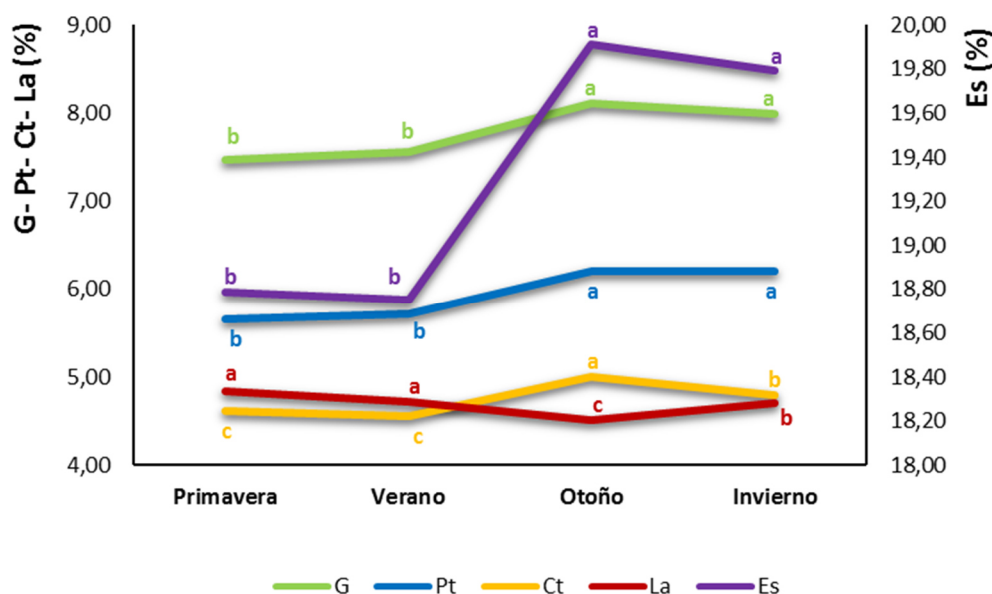


Figura 12. Composición en grasa (G), proteína total (Pt), caseína total (Ct), lactosa (La) y extracto seco (Es) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega según la estación del año (superíndices distintos a, b, c:  $p < 0,05$ ).

De forma similar, en la **Figura 13** se comprueban los niveles inferiores de urea obtenidos en la leche de primavera y verano, que podrían estar influenciados por el citado antagonismo, siendo su tendencia muy similar a la del extracto seco, como se puede observar en la **Figura 12**; sin embargo, valores similares de urea en leche han sido obtenidos en otras estaciones (Prpić y cols., 2005), sugiriendo la influencia de otros condicionantes del sistema de producción, alimentación, etc., que podrían afectar a la variación del contenido de urea en leche.

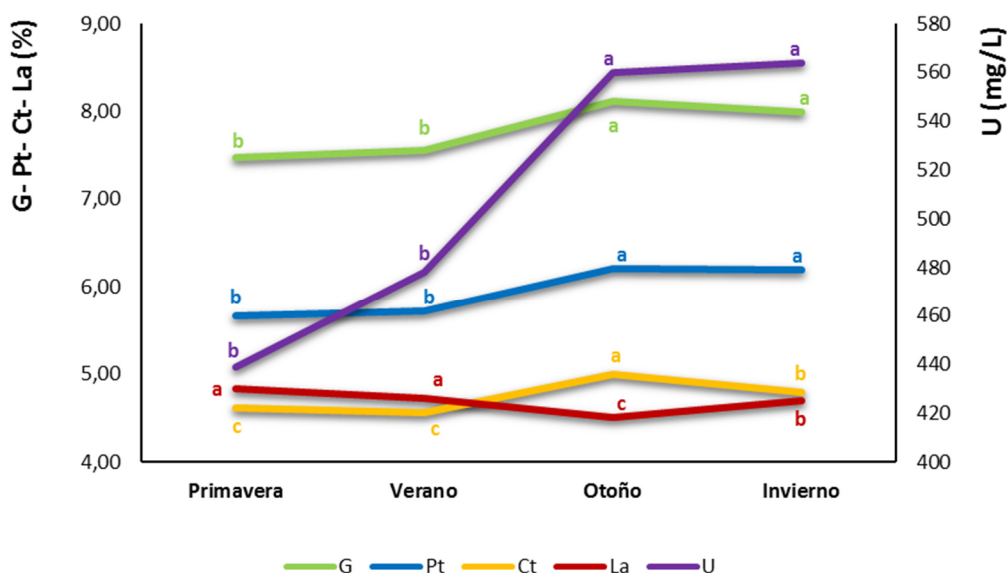


Figura 13. Composición en grasa (G), proteína total (Pt), caseína total (Ct), lactosa (La) y urea (U) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega según la estación del año (superíndices distintos a, b, c:  $p < 0,05$ ).

Respecto a la relación caseína total/grasa, el efecto estación es menos acusado (0,60-0,62). Desde la perspectiva de la industria láctea, la relativa estabilidad obtenida para caseína total/grasa a lo largo del año indica que la leche de oveja Manchega está muy estandarizada en lo referente a esta relación, lo que es muy importante desde el punto de vista de la tecnología quesera (Wendorff, 2017).

La estación también ha tenido un efecto significativo sobre el pH, con valores superiores en los meses de otoño e invierno y que coinciden con los mayores valores obtenidos para los componentes principales de la leche (grasa, proteína total y extracto seco) (Figura 14). Estos resultados ratifican la correlación positiva entre pH y los componentes principales comentada anteriormente y se encuentran en la línea del estudio de Coulon y cols. (1991).

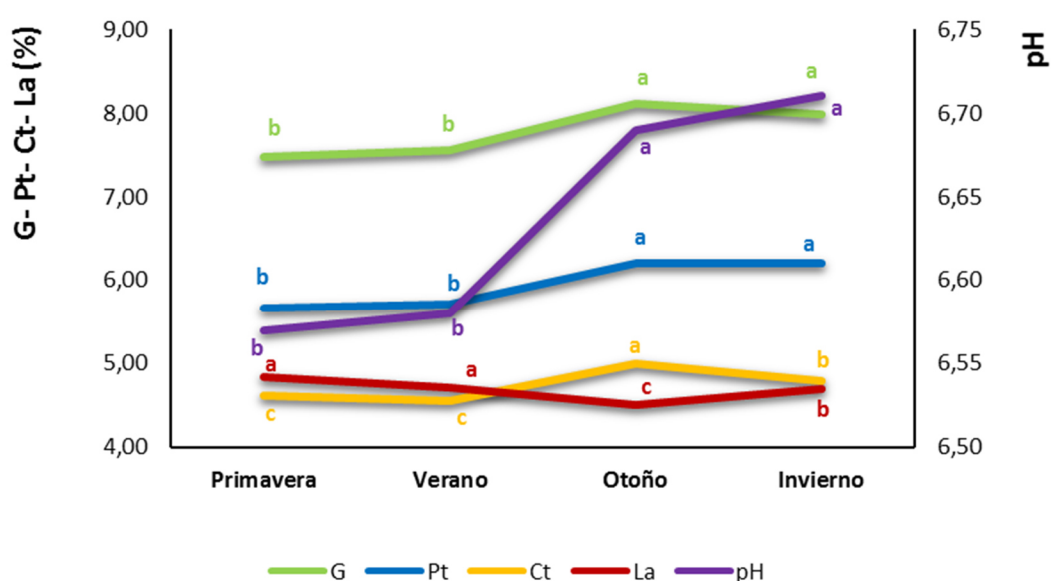


Figura 14. Composición en grasa (G), proteína total (Pt), caseína total (Ct), lactosa (La) y pH de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega según la estación del año (superíndices distintos a, b, c:  $p < 0,05$ ).

En cuanto a los índices colorimétricos, para luminosidad los valores significativamente más altos ( $p < 0,05$ ) se han obtenido en las estaciones de primavera y verano (Figura 15). Cabe señalar que los valores más bajos observados para los componentes mayoritarios de la leche en primavera y verano influyen en el color de la leche, observándose una tendencia hacia una coloración más blanquecina en la leche obtenida en estas estaciones, cuando hay una mayor producción de leche en las ganaderías. Esta variación de color estaría relacionada con los componentes nitrogenados de la leche, a la vista de las correlaciones con luminosidad, negativas y significativas, y a la ausencia de correlación con la grasa, comentados anteriormente, y que se muestran en la Tabla 12.

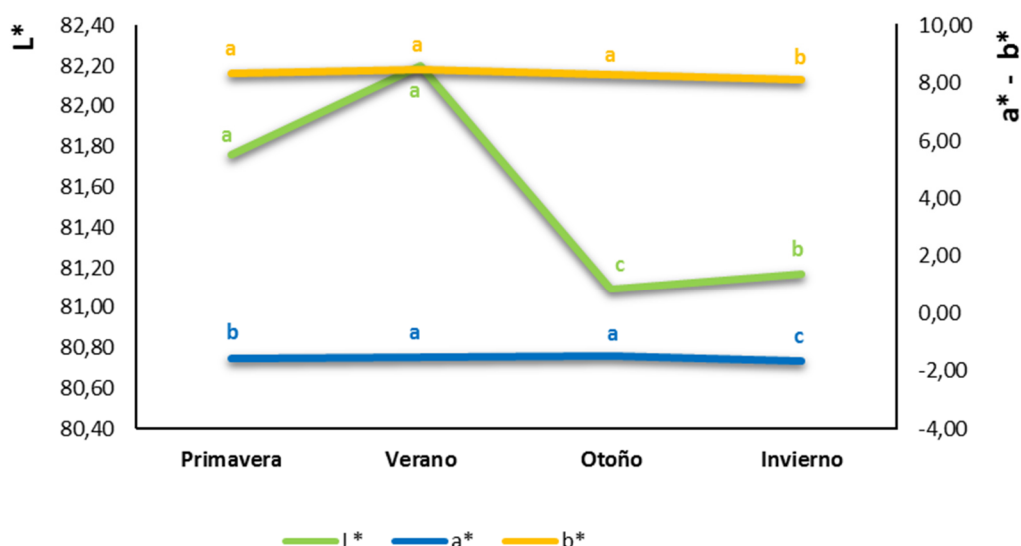


Figura 15. Parámetros colorimétricos luminosidad ( $L^*$ ), índice de rojo ( $a^*$ ) e índice de amarillo ( $b^*$ ) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega según la estación del año (superíndices distintos a, b, c:  $p < 0,05$ ).

Además, para los índices de rojo y amarillo, los resultados significativamente más bajos se han obtenido en invierno, indicando una tendencia hacia una coloración verde y azulada en esta estación de la leche de tanque de oveja Manchega (Figura 15). La tendencia observada en la leche podría explicarse por los mayores contenidos de algunos pigmentos (como por ejemplo, la riboflavina) en ésta estación, tal y como se ha citado en vacuno lechero por Poulsen y cols. (2015b).

#### AGRAMA.

El factor *pertenencia o no de la ganadería a la Asociación Nacional de Criadores de Ganado Ovino Selecto de raza Manchega (AGRAMA)* afecta significativamente ( $p < 0,05$ ) al contenido en grasa y lactosa, así como al índice de rojo de la leche de tanque de oveja Manchega. Los valores más bajos significativamente ( $p < 0,05$ ) para grasa se han obtenido en aquellas ganaderías que están asociadas a AGRAMA, frente al resto de ganaderías de raza Manchega (7,66% vs 7,91%) (Figura 16), lo que estaría condicionado por la relación inversamente proporcional antes comentada que existe entre cantidad de leche y contenido en grasa de la misma (Emery, 1988). Por otro lado, la lactosa presenta la tendencia contraria, con valores más altos en aquellas ganaderías incluidas en AGRAMA frente a las que no se encuentran incluidas en esta asociación (4,75% vs 4,64%). Hay que considerar la gran diferencia en la producción de leche entre las ganaderías pertenecientes a AGRAMA y las que no pertenecen a la Asociación (226 vs 115 litros de leche) (ESROM, 2013), que influiría en estos resultados. Sin embargo, es de destacar la ausencia de variación significativa en la relación caseína total/grasa entre las ganaderías incluidas y no incluidas en AGRAMA (0,62 vs 0,61) que evidencia una estabilidad en cuanto a la capacidad de la leche para la producción de queso de todas las ganaderías estudiadas.



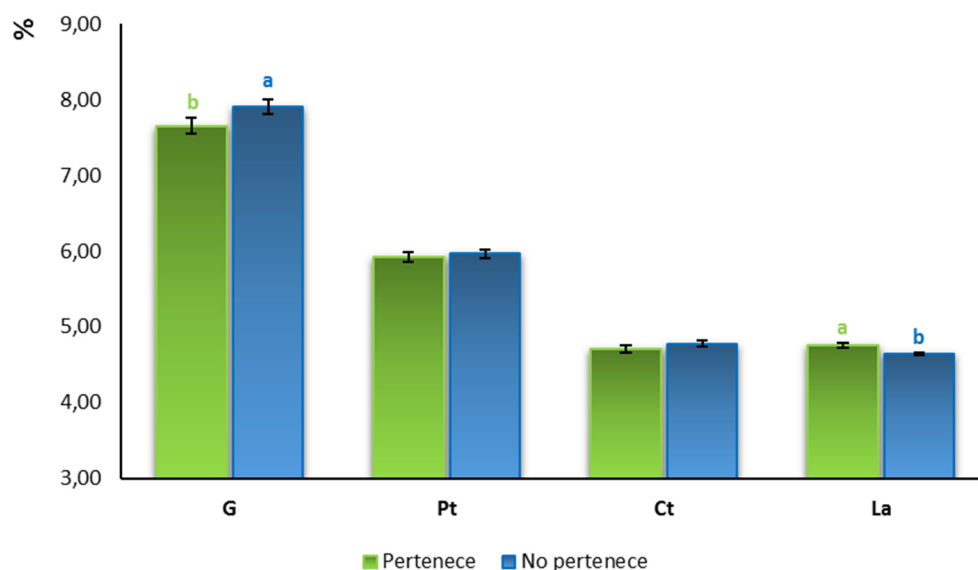


Figura 16. Composición en grasa (G), proteína total (Pt), caseína total (Ct), lactosa (La) y pH de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de su pertenencia a AGRAMA (superíndices distintos a, b:  $p < 0,05$ ).

En cuanto a la coloración de la leche, aquellas ganaderías que forman parte de AGRAMA presentan un índice de rojo significativamente inferior (leche más azulada) que las no incluidas en AGRAMA (leche más amarillenta): -1,59 vs -1,51 (**Figura 17**). La coloración más azulada podría estar relacionada con la concentración de grasa y el tipo de alimentación suministrada en ambos tipos de ganaderías.

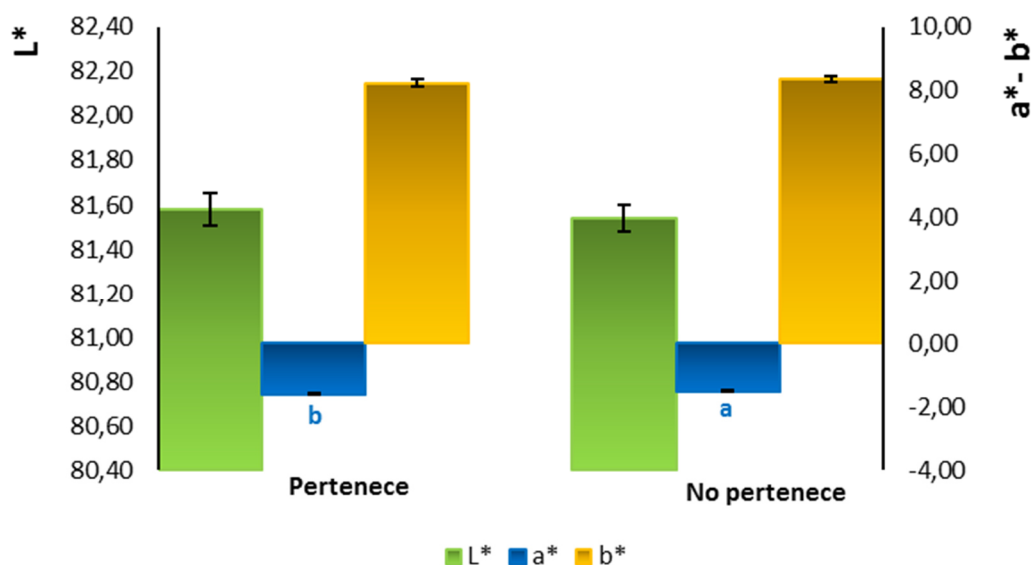
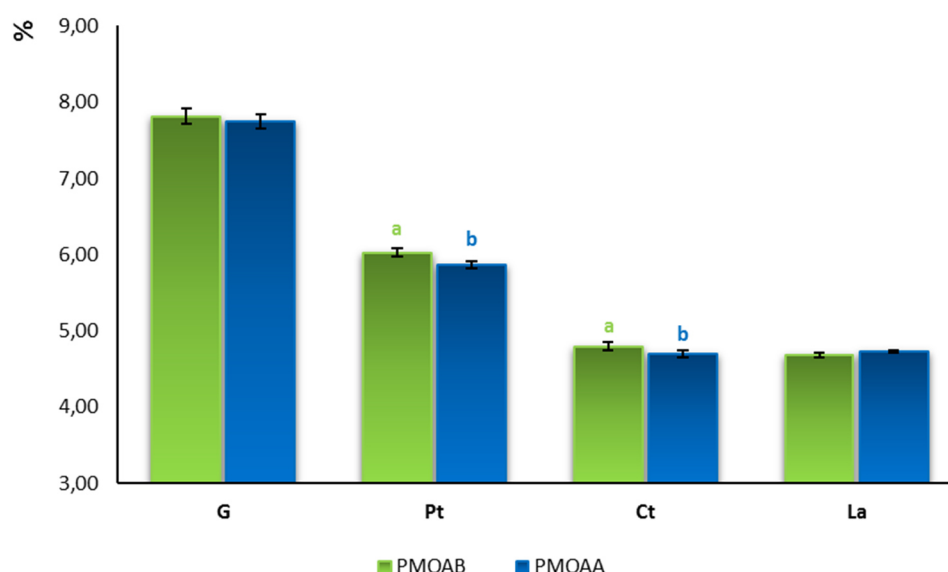


Figura 17. Parámetros colorimétricos luminosidad (L\*), índice de rojo (a\*) e índice de amarillo (b\*) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de su pertenencia a AGRAMA (superíndices distintos a, b:  $p < 0,05$ ).

**Producción de leche por oveja y año de la ganadería.**

En esta línea, el factor *producción media por oveja y año en las ganaderías estudiadas* ha tenido un efecto significativo ( $p<0,05$ ), sobre proteína total, caseína total, relación proteína total/extracto seco y pH.

Se han obtenido los valores significativamente inferiores ( $p<0,05$ ) en aquellas ganaderías con producciones  $\geq 133$  litros/oveja/año respecto a las de inferior producción, para proteína total (5,87 vs 6,03) y caseína total (4,69 vs 4,79) (**Figura 18**), así como para la relación proteína total/extracto seco (30,51 vs 31,05) y pH (6,62 vs 6,65) (**Figura 19**). Se comprueba de nuevo el antagonismo de la producción frente a la riqueza de la leche, que es significativo para proteína y caseína total, siguiendo esa tendencia el porcentaje graso de la leche de tanque, razón por la que se obtiene una menor relación proteína total/extracto seco en las ganaderías más productoras. Estos resultados están en la línea de los estudios de [Serrano y cols. \(2003\)](#) y [Arias \(2009\)](#) que muestran correlaciones negativas entre producción de leche y los contenidos de proteína o de grasa. Asimismo, se obtienen también niveles de pH superiores en las ganaderías con una mayor riqueza de la leche, como ya se ha comentado anteriormente.



**Figura 18.** Composición en grasa (G), proteína total (Pt), Caseína total (Ct), Lactosa (La) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función del nivel de producción de leche de la ganadería (PMOA: PMOAB<133 litros/oveja/año; PMOAA>133 litros/oveja/año) (superíndices distintos a, b:  $p<0,05$ ).

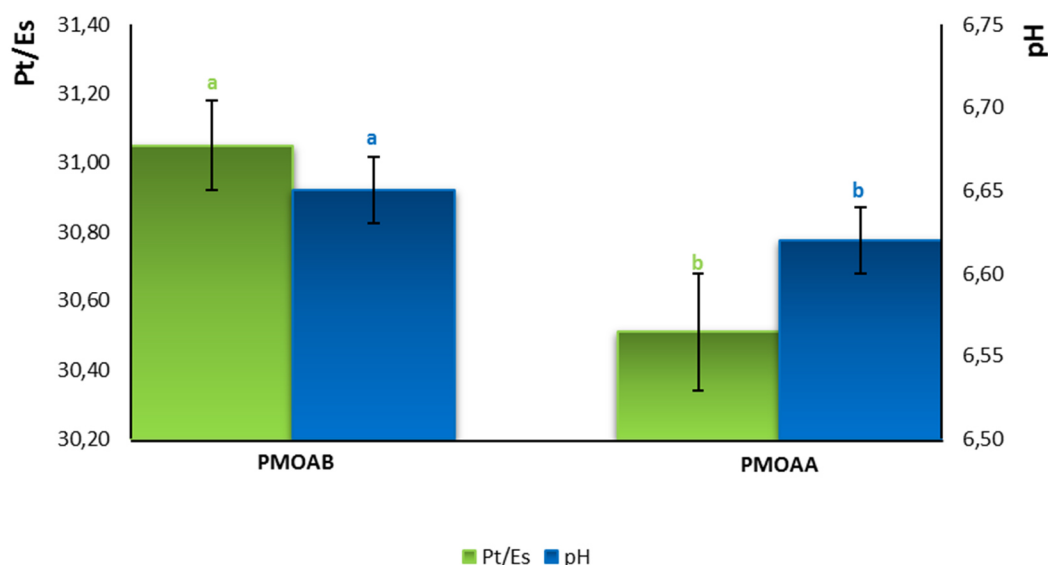


Figura 19. Parámetros colorimétricos luminosidad ( $L^*$ ), índice de rojo ( $a^*$ ) e índice de amarillo ( $b^*$ ) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función del nivel de producción de leche de la ganadería (PMOAB<133 litros/oveja/año; PMOAA>133 litros/oveja/año) (superíndices distintos a, b:  $p<0,05$ ).

Podría esperarse un resultado similar en las diferencias de composición entre los factores **pertenencia a AGRAMA y producción de leche por oveja y año de la ganadería**, dado que las producciones de las ganaderías de AGRAMA son superiores que las que no pertenecen a esta asociación, como ya se ha comentado anteriormente. Sin embargo, mientras que existen diferencias significativas para grasa y las fracciones nitrogenadas por el efecto del factor producción de leche, para el factor AGRAMA sólo se observan diferencias significativas para grasa. A la vista de estos resultados, las ganaderías de AGRAMA, cuyo Programa de Cría sólo incluye como objetivo de selección el aumento de la producción de leche, deberían incluir también parámetros de calidad de la leche, especialmente proteína, dado el resultado observado en este estudio para el factor producción de leche, con el fin de evitar que en un futuro los niveles de proteína disminuyan también.

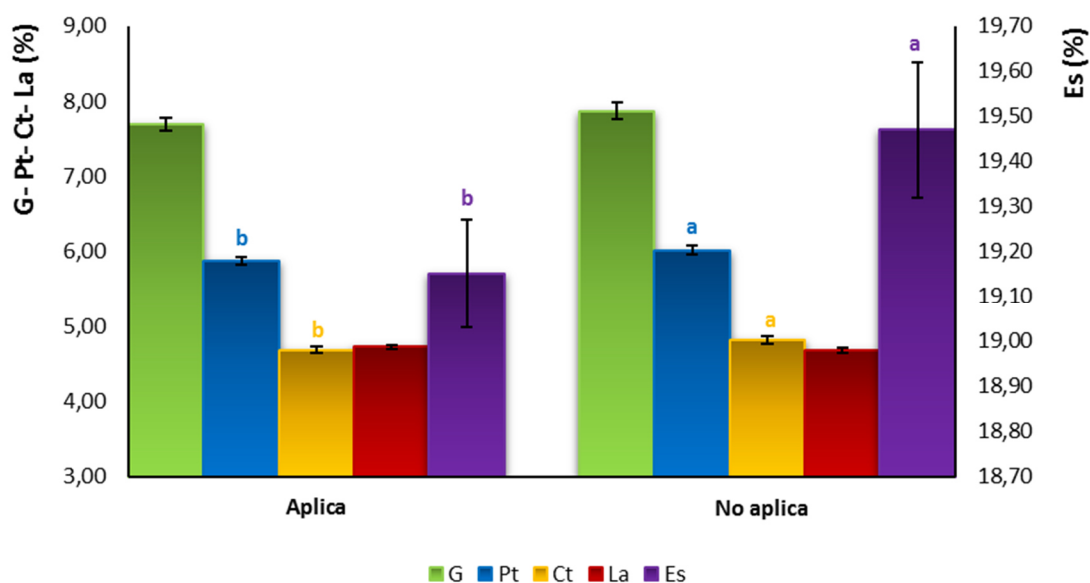
#### Factores relacionados con la alimentación de las ovejas de ordeño.

El factor manejo de la alimentación es uno de los que mayor grado de influencia presenta sobre la composición de la leche de oveja (Bocquier y Caja, 2001), y que se confirma con los resultados obtenidos para los diferentes factores de alimentación estudiados en el presente trabajo.

#### **Aplicación de lotes de alimentación.**

La aplicación o no de lotes de alimentación en función del nivel de producción de leche de las ovejas de ordeño presenta un efecto significativo ( $p<0,05$ ) sobre proteína total, extracto seco y caseína total.

Se observan valores significativamente menores ( $p < 0,05$ ) en las ganaderías que utilizan lotes de alimentación respecto a las que no utilizan esta práctica, para proteína total (5,88% vs 6,02%), extracto seco (19,15% vs 19,47%) y caseína total (4,68% vs 4,81%) (**Figura 20**).



**Figura 20.** Composición en grasa (G), proteína total (Pt), caseína total (Ct), lactosa (La) y extracto seco (Es) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de la aplicación de lotes de alimentación (superíndices distintos a, b:  $p < 0,05$ ).

La aplicación de lotes de alimentación se basa en el uso de raciones equilibradas según el nivel productivo de las ovejas de ordeño, siendo una práctica habitual en las ganaderías más especializadas en la producción lechera, que suelen ser las de mayor tamaño censal, mientras que las ganaderías más pequeñas adoptan en menor medida esta tecnología (Rivas y cols., 2015). En este estudio la aplicación de lotes de alimentación revela su influencia sobre los principales componentes nitrogenados de la leche de tanque, lo que podría estar relacionado, en principio, con un efecto dilución en estas ganaderías de mayor tamaño y que aplican lotes en mayor proporción (**Tabla 10.3.**). Esta misma tendencia se obtiene para el porcentaje en grasa, aunque no resulta significativa (7,69% vs 7,87%). Esto sugiere la influencia de otros factores que condicionarían los menores niveles de los componentes nitrogenados de la leche en las ganaderías que utilizan lotes de producción. También indicaría un desajuste de las raciones suministradas a las ovejas de ordeño en base a su capacidad productiva, tal como explicaba Lagriffoul y cols. (1999b). Estudios como el de Fraysse y cols. (1996) y Bocquier y Caja (2001), señalan la influencia de la estructura del rebaño y de los lotes de producción sobre la calidad de la leche, por la pérdida de eficacia de los aportes proteicos de la ración, sobre todo para las ovejas menos productivas. Bocquier y cols. (1995) indicaron que en las raciones de cada lote de producción tienen que estar bien compensados los niveles de concentrado y de forrajes de calidad. Por su parte el contenido de urea, aunque es ligeramente superior en las ganaderías que aplican lotes, no aporta suficiente discriminación para poder explicar los bajos niveles de los

componentes proteicos de la leche de tanque. En cualquier caso, se evidencia la importancia del racionamiento correcto de las ovejas de ordeño, particularmente del nivel de concentrado y forraje, para evitar la pérdida de aportes proteicos de la ración y favorecer su aprovechamiento para la mejora de la calidad de la leche.

#### **Tipo de alimentación.**

El factor tipo de alimentación suministrada de las ovejas de ordeño no presenta influencia significativa ( $p < 0,05$ ) para ninguna de las características de la leche estudiadas.

Podemos señalar únicamente que la relación caseína total/grasa es ligeramente superior en las ganaderías que elaboran unifeed (TaUP) frente a las que utilizan unifeed comercial (TaUC) o mezcla de forraje y concentrado (TaMFC) (0,63 vs 0,60-0,61, respectivamente), ocasionado por las diferencias en el porcentaje en grasa (**Tabla 14**), que es menor en las ganaderías que elaboran su unifeed.

La elaboración de unifeed en la propia explotación requiere determinados medios técnicos (almacenes de materias primas, carro mezclador, cintas de alimentación, etc.), y no está aún implantada en muchas ganaderías (**Tabla 10.3.**), salvo en las de mayor censo, que suelen tener un mayor nivel tecnológico. En esta línea, los resultados de la adopción de tecnologías en ganaderías de oveja Manchega ([Rivas, 2015](#)), evidencian que la alimentación es la que tiene un menor nivel de adopción, lo que estaría condicionando la calidad de la leche obtenida en este tipo de explotaciones. Asimismo, en la fabricación de unifeed elaborado en la propia ganadería se utilizan habitualmente forrajes ensilados, que pueden ocasionar una disminución del nivel de grasa en la leche ([Chenais y cols., 2004](#)).

#### **Utilización de subproductos húmedos.**

El factor uso de subproductos en la ración de las ovejas de ordeño, que generalmente son bagazo de cerveza u otros subproductos húmedos como pulpa de naranja, ejerce un efecto significativo ( $p < 0,05$ ) sobre el contenido en urea de la leche de tanque.

Los valores de urea en leche son significativamente mayores en aquellas ganaderías que utilizan subproductos en la alimentación de los animales, siendo la tendencia inversa para el contenido de los principales componentes de la leche (**Figura 21**). Esta circunstancia indica un desequilibrio en el contenido proteico de la ración, que incluso podría comprometer el estado de salud de los animales con patologías relacionadas con un exceso de nitrógeno (mamitis, laminitis, enterotoxemias, alcalosis, etc) ([Sallato y cols., 2013](#)). Muchos autores han llegado a esta misma conclusión ([Cannas y cols., 1998](#); [Lagriffoul y cols., 1999b](#)), defendiendo la necesidad de equilibrar la proteína degradable ruminal y la energía fermentable, con el objetivo de reducir los posibles excesos de nitrógeno, y

consecuentemente el superávit de amoníaco ruminal que da lugar a concentraciones elevadas en sangre y leche.

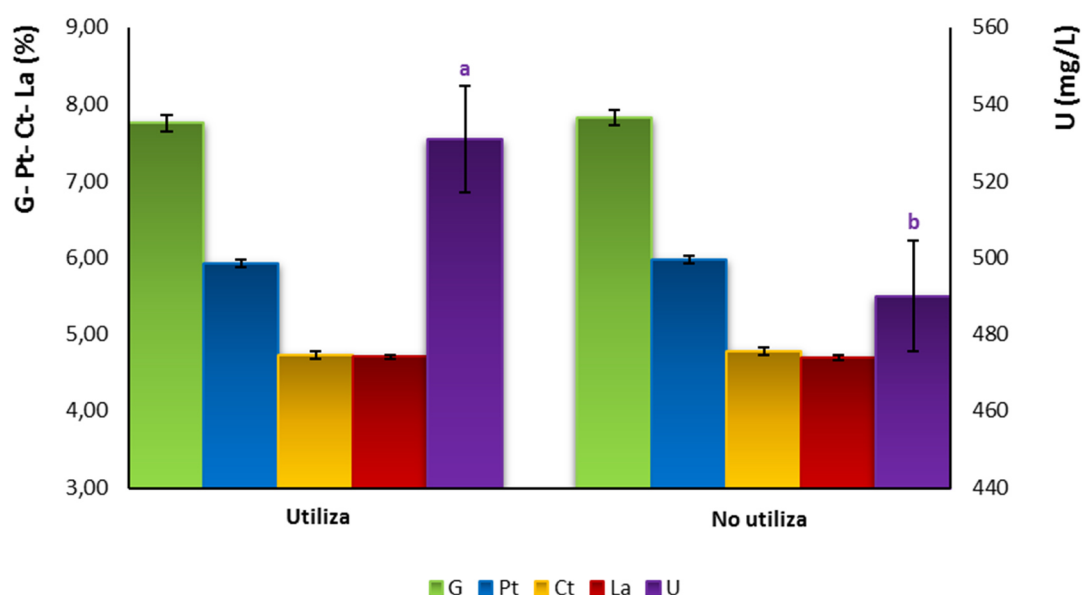


Figura 21. Composición en grasa (G), proteína total (Pt), caseína total (Ct), lactosa (La) y urea (U) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de la utilización de subproductos (superíndices distintos a, b:  $p < 0,05$ ).

#### Tipo de forraje.

El factor tipo de forraje utilizado en la alimentación de las ovejas de ordeño (henificado o ensilado), presenta un efecto significativo ( $p < 0,05$ ) sobre la relación proteína total/extracto seco, la relación caseína total/grasa y porcentaje de lactosa, así como sobre el color de la leche (índice de rojo: a\*).

Los valores significativamente superiores de la relación proteína total/extracto seco se obtienen cuando se utiliza forraje henificado respecto al ensilado (31,57 vs 30,00); esta misma circunstancia se obtiene para la relación caseína total/grasa (0,63 vs 0,59) (**Figura 22**). La relación caseína total/grasa=0,59, obtenida en leche de ganaderías que utilizan ensilado corresponde al menor valor obtenido en este estudio, indicando un desequilibrio importante en este índice tan importante en la tecnología quesera, con una mayor proporción de grasa y una menor proporción de caseína total (**Figura 22**). El descenso de los componentes nitrogenados de la leche podría estar asociado a una mayor proporción de nitrógeno no proteico existente en los forrajes conservados como ensilados comparado con aquellos conservados como henificados (Martin y cols., 2004). Esta afirmación ha sido corroborada en el presente estudio, al obtenerse mayores niveles de urea en leche en aquellas ganaderías que adicionan ensilado, frente a las que utilizan un forraje tipo henificado, aunque sin diferencias significativas (533 vs 487 mg/mL). Otra posible explicación podría ser una mejor degradación ruminal de la proteína cruda procedente del forraje ensilado frente al henificado. En

relación con ésta última explicación, Vagnoni y Broderick (1997) en vacuno lechero evidenciaron que se producía una mayor degradación del nitrógeno procedente del forraje ensilado que del forraje henificado, produciéndose incluso un exceso de nitrógeno por encima de la energía disponible para la síntesis de proteína microbiana, dando lugar a un excedente de nitrógeno no aprovechado.

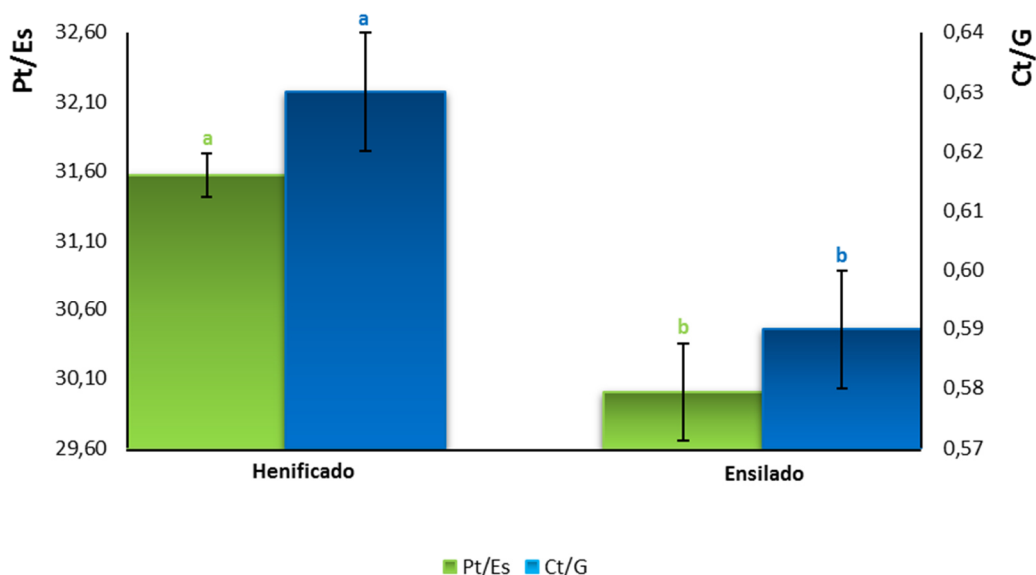


Figura 22. Relaciones proteína total/extracto seco (Pt/Es) y caseína total/grasa (Ct/G) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función del tipo de forraje (superíndices distintos a, b:  $p < 0,05$ ).

Por el contrario, el contenido en lactosa significativamente mayor en leche de tanque se ha obtenido cuando se utiliza ensilado frente al henificado (4,80% vs 4,59%) (Figura 23). Estos resultados corroboran los de Badran y cols. (2014), quienes señalaron un incremento de lactosa cuando se adiciona forraje tipo ensilado, acompañado también con un incremento de la producción lechera.

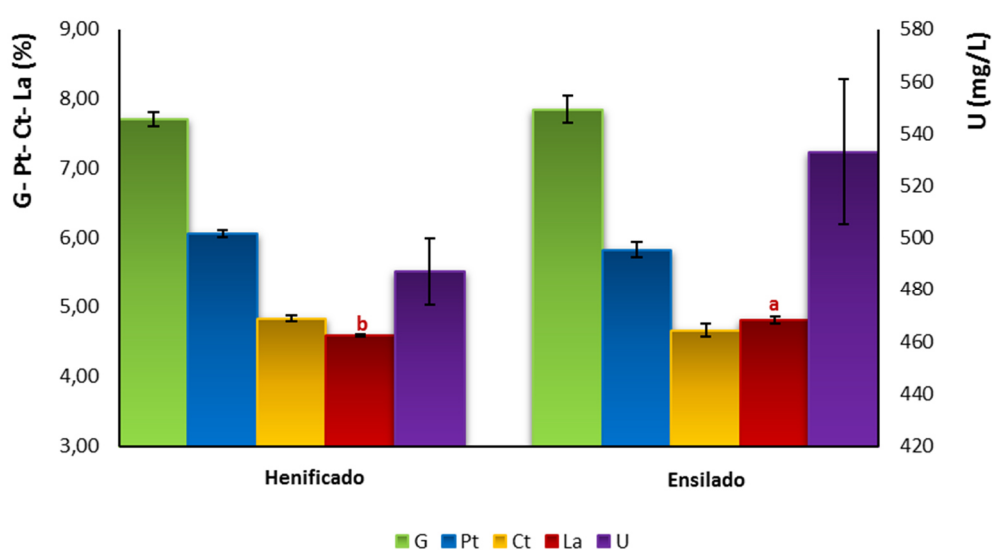


Figura 23. Composición en grasa (G), proteína total (Pt), caseína total (Ct), lactosa (La) y urea (U) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función del tipo de forraje (superíndices distintos a, b:  $p < 0,05$ ).

En cuanto a la coloración de la leche, aquellas ganaderías que utilizan ensilado presentan un índice de rojo ( $a^*$ ) significativamente menor ( $p < 0,05$ ) que las que utilizan forraje henificado (-1,63 vs -1,48) (Figura 24). Así, la adición de forrajes ensilados daría lugar a una leche de coloración más verdosa que si el forraje es de tipo henificado, donde el color de la leche es más amarillento significativamente, y que podría asociarse a la cantidad de riboflavinas contenidas en la leche. En vacuno lechero se han realizado algunos estudios relacionados con los contenidos de riboflavina que explicarían esta afirmación (Lee y cols., 1998; Shingfield y cols., 2005). Sería necesario llevar a cabo más estudios que evaluaran el perfil de pigmentos existentes en la leche de ovino, no sólo por el impacto que tiene sobre la leche sino por el interés desde el punto de vista de la elaboración de productos lácteos (Prache y cols., 2005).

Se obtiene además una cierta coloración más amarillenta ( $b^*$ ) en forraje henificado respecto a ensilado, aunque no llega a ser significativo, y que podría también estar relacionada con la presencia de pigmentos como en el caso del índice de rojo.

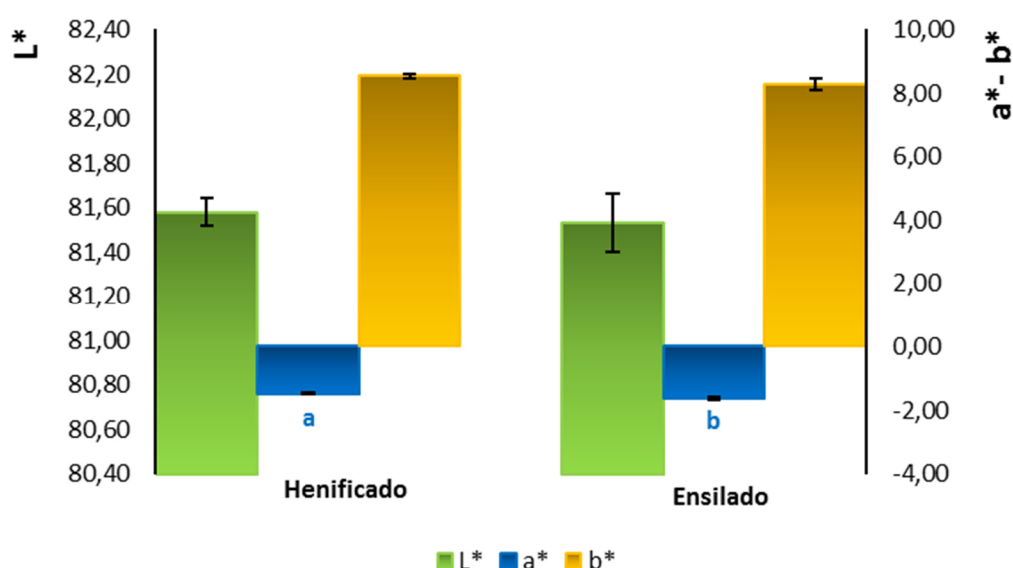


Figura 24. Parámetros colorimétricos luminosidad ( $L^*$ ), índice de rojo ( $a^*$ ) e índice de amarillo ( $b^*$ ) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función del tipo de forraje (superíndices distintos a, b:  $p < 0,05$ ).



RESUMEN DEL EFECTO DE LA ESTACIÓN DEL AÑO Y DE LAS CARACTERÍSTICAS DE LAS GANADERÍAS SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E ÍNDICES COLORIMÉTRICOS DE LECHE DE TANQUE DE LAS GANADERÍAS DE RAZA OVINA MANCHEGA.

SUMMARY OF THE EFFECT OF SEASON AND THE CHARACTERISTICS OF THE FARMS ON THE PHYSICO-CHEMICAL AND COLORIMETRIC CHARACTERISTICS OF BULK TANK MILK OF MANCHEGA SHEEP FARMS.

PARÁMETROS <sup>1</sup>	G	Pt	Es	Ct	La	Pt/Es	Ct/g	U	pH	L*	a*	b*
Estación												
Primavera					↑		↑					
Verano					↑							
Otoño	↑	↑	↑	↑	↓	↑	↑		↑			
Invierno	↑	↑	↑			↑		↑	↑	↓		
AGRAMA											↓	↓
Pertenece	↓				↑						↓	
No Pertenece	↑				↓						↑	
PMOA <sup>2</sup>												
PMOAB		↑		↑		↑			↑			
PMOAA		↓		↓		↓			↓			
Lotes de alimentación												
Aplica		↓	↓	↓								
No Aplica		↑	↑	↑								
Subproductos												
Utiliza								↑				
No utiliza								↓				
Tipo de forraje												
Henificado					↓	↑	↑					
Ensilado					↑	↓	↓				↓	

<sup>1</sup>G=% Grasa, Pt=% Proteína total, Es=% Extracto seco, Ct=% Caseína total, La=% Lactosa, Pt/Es=Proteína total / Extracto seco, Ct/G=Caseína total/Grasa, U=Urea (mg/L); L\*=Luminosidad, a\*=índice de rojo, b\*=índice de amarillo; <sup>2</sup>PMOA= producción media por oveja y año (PMOAB < 133 litros/oveja/año, PMOAA ≥ 133 litros/oveja/año).

#### 7.4. ANÁLISIS DE CORRESPONDENCIAS ENTRE LAS CATEGORÍAS DE LAS DISTINTAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E ÍNDICES COLORIMÉTRICOS EN LECHE DE TANQUE, Y LOS FACTORES RELACIONADOS CON EL SISTEMA PRODUCTIVO DE LAS GANADERÍAS DE RAZA OVINA MANCHEGA.

Para completar el estudio de la asociación entre los parámetros físico-químicos e índices colorimétricos de la leche de tanque con los factores de manejo anteriormente mostrados, se han realizado diferentes análisis de correspondencias, en los que se aprecia de forma gráfica los resultados obtenidos en este Capítulo.

La asociación entre la **estación del año** y las variables categóricas físico-químicas consideradas en el análisis se muestra en la **Figura 25**. La dimensión 1 (27,28% de la varianza total) permite la diferenciación de dos grupos de muestras. Por un lado, se agrupan las muestras de menor contenido en grasa (**G1**), proteína total (**Pt1**), caseína total (**Ct1**) y mayor contenido en lactosa (**La2**), con los índices de color **A1** y **B1**; y por otra parte las categorías de mayor contenido en grasa (**G2**), proteína total (**Pt2**), caseína total (**Ct2**), y menor contenido en lactosa (**La1**), con los índices de color **A2** y **B2**. La dimensión 2 (14,96% de la varianza total) permite la diferenciación, por un lado, de la asociación de las estaciones primavera y verano con niveles altos de luminosidad (**L2**) y bajos contenidos de urea (**U1**), y por otro lado, entre las estaciones de invierno y otoño con niveles bajos de luminosidad (**L1**) y altos contenidos de urea (**U2**).

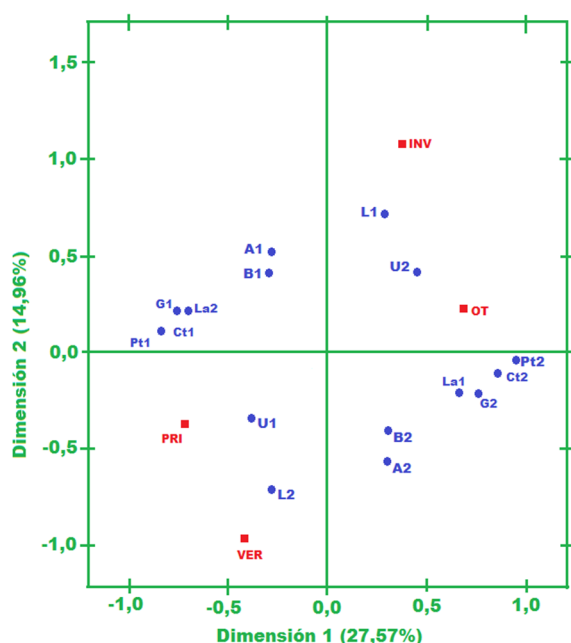


Figura 25. Análisis de correspondencias de las variables estudiadas según estación (cuadrados rojos donde PRI= Primavera, VER= Verano, OT= Otoño y INV= invierno) y las características físico-químicas e índices colorimétricos (círculos azules donde G1= grasa baja, G2= grasa alta; Pt1= proteína total baja, Pt2= proteína total alta; Ct1= caseína total baja, Ct2= caseína total alta; La1= lactosa baja, La2= lactosa alta; U1= urea baja, U2 urea alta; L1= baja luminosidad, L2= alta luminosidad; A1= índice de rojo bajo (verde), A2= índice de rojo alto (rojo); B1= índice de amarillo bajo (azul), B2= índice de amarillo alto (amarillo) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.

Los aspectos comentados para el factor estación (**Tabla 14**) se pueden observar de forma gráfica en esta figura, con la asociación de las principales características físico-químicas y de color de la leche de oveja en las estaciones de primavera-verano, por un lado, y de invierno-otoño, por otro. Estas diferencias están motivadas principalmente por el actual sistema de producción de la oveja Manchega, que mantiene una cierta estacionalidad, con un mayor porcentaje de partos a finales de invierno y primavera, y lactaciones cada vez más largas, que permite unas altas producciones también en verano. En la actualidad, las ganaderías de oveja Manchega están intentando organizar su ritmo reproductivo para tener 4-5 parideras, con el fin de mantener el nivel de producción lechera lo más estable posible a lo largo del año (**ESROM, 2018**). Este objetivo también permitirá mantener más normalizada la composición de la leche durante todo el año, con positivas repercusiones en la industria quesera.

Destaca la asociación existente entre la estación (invierno y otoño), con los valores elevados de urea en leche ( $U2 \geq 478$  mg/L), que indicaría una baja eficiencia en la utilización de nitrógeno para la producción lechera (**Cannas y cols., 1998; Landau y cols., 2005**).

La asociación entre **factores relacionados con la alimentación** de las ovejas de ordeño y las variables categóricas físico-químicas de la leche de tanque consideradas en el análisis se muestra en la **Figura 26**. La dimensión 1 (27,28% de la varianza total), permite la diferenciación de dos grupos de muestras, por un lado se observa la asociación entre las categorías de menor contenido en grasa (**G1**), proteína total (**Pt1**), caseína total (**Ct1**) y urea (**U1**) y un mayor contenido en lactosa (**La2**), y por otra parte las categorías de mayor contenido en grasa (**G2**), proteína total (**Pt2**), caseína total (**Ct2**) y urea (**U2**), y menor de lactosa (**La1**). Asimismo, se observa por un lado la asociación entre las ganaderías de menos de 600 ovejas (**TE1**) y de ganaderías con 600-1.200 ovejas (**TE2**), con una producción de leche inferior a 133 litros/oveja/año (**PMOAB**), que no aplican lotes de alimentación (**LtN**), y con una alimentación basada en unifeed comercial (**TaUC**) o forraje y concentrado (**TaMFC**) y un tipo de forraje henificado heno (**FoH**); y por otra parte una menor asociación entre las ganaderías con más de 1.200 ovejas (**TE3**), con producciones superiores a 133 litros/oveja/año (**PMOAA**), que elaboran el unifeed en la propia ganadería (**TaUP**), que utilizan ensilado (**FoE**) y que realizan lotes de alimentación en función del nivel productivo (**LtS**). Las dos dimensiones en conjunto explican el 45,02% de la variación total, siendo el factor uso de ensilado (**FoE**) y unifeed elaborado en la propia ganadería (**TaUP**) las variables más discriminatorias.

La asociación entre factores relacionados con la alimentación de las ovejas de ordeño y las variables de color de la leche de tanque consideradas en el análisis se muestra en la **Figura 27**. La dimensión 1 (26,82% de la varianza total) diferencia dos grupos de categorías: por una parte, entre ganaderías de menor tamaño (**TE1**), con menor producción de leche (**PMOAB**), que utilizan mezcla de forraje y concentrado (**TaMFC**) y no realizan lotes de alimentación por producción (**LtN**) con los mayores

valores de luminosidad (**L2**), índice de rojo (**A2**) y de amarillo (**B2**); y por otra parte entre las ganaderías de mayor producción de leche (**PMOAA**), uso de lotes de alimentación por producción (**LtS**) con los menores valores de luminosidad (**L1**), índice de rojo (**A1**) y de amarillo (**B1**).

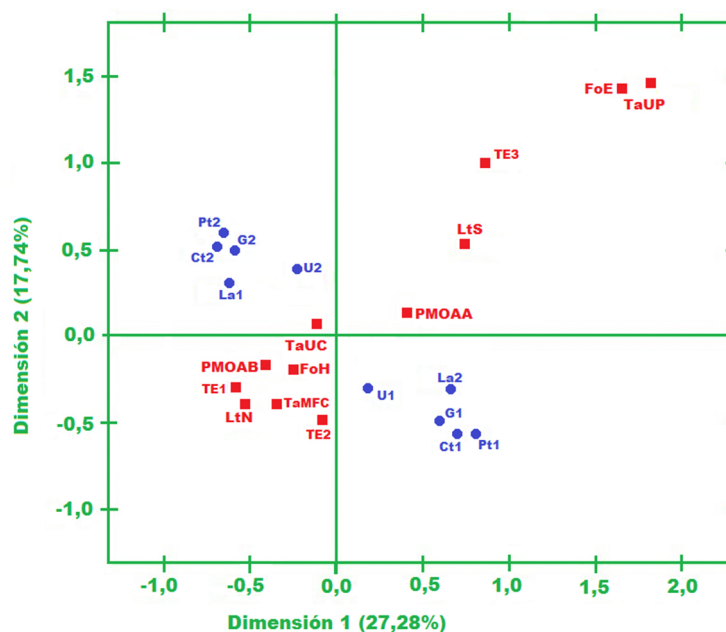


Figura 26. Análisis de correspondencias de las variables estudiadas según el manejo de la alimentación, la dimensión productiva y la producción media por oveja y año (cuadrados rojos donde LtN= no aplica lotes de alimentación, LtS= aplica lotes de alimentación; TaUC= unifeed comercial, TaUP= unifeed propio, TaMFC= mezcla de forraje y concentrado; FoH= forraje henificado, FoE= forraje ensilado; TE1= explotación<600 ovejas, TE2= explotación entre 600-1.200 ovejas, TE3= explotación≥1.00 ovejas; PMOAB< 133 litros/oveja/año, PMOAA≥ 133 litros/oveja/año) y las características físico-químicas (círculos azules donde G1= grasa baja, G2= grasa alta; Pt1= proteína total baja, Pt2= proteína total alta; Ct1= caseína total baja, Ct2= caseína total alta; La1= lactosa baja, La2= lactosa alta; U1= urea baja, U2= urea alta) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.

Considerando los resultados de las Figuras 26 y 27 en conjunto, es necesario resaltar la estrecha asociación entre las ganaderías pequeñas y medianas, y sus características de manejo de alimentación, con las características físico-químicas o de color, frente a la escasa asociación de las ganaderías grandes, que están más relacionadas con la utilización de unifeed elaborado en la propia ganadería (**TaUP**) y el uso de ensilado (**FoE**). Estos resultados evidencian que las estrategias de alimentación de las ganaderías pequeñas y medianas se aplican de forma más eficiente según las características productivas de sus animales, comparadas con las ganaderías de mayor tamaño, donde se evidencia la dificultad de optimizar las raciones. Estos resultados estarían acordes con lo señalado por Rivas y cols., (2015), quién destacó la dificultad para optimizar el manejo alimentario en las ganaderías de oveja Manchega, sobre todo en las de mayor tamaño y más producción lechera.

En base a los resultados obtenidos, sería conveniente optimizar las raciones de acuerdo a las características productivas de las ganaderías de oveja Manchega, así como profundizar en el estudio de los factores que condicionan la coloración de la leche de oveja.

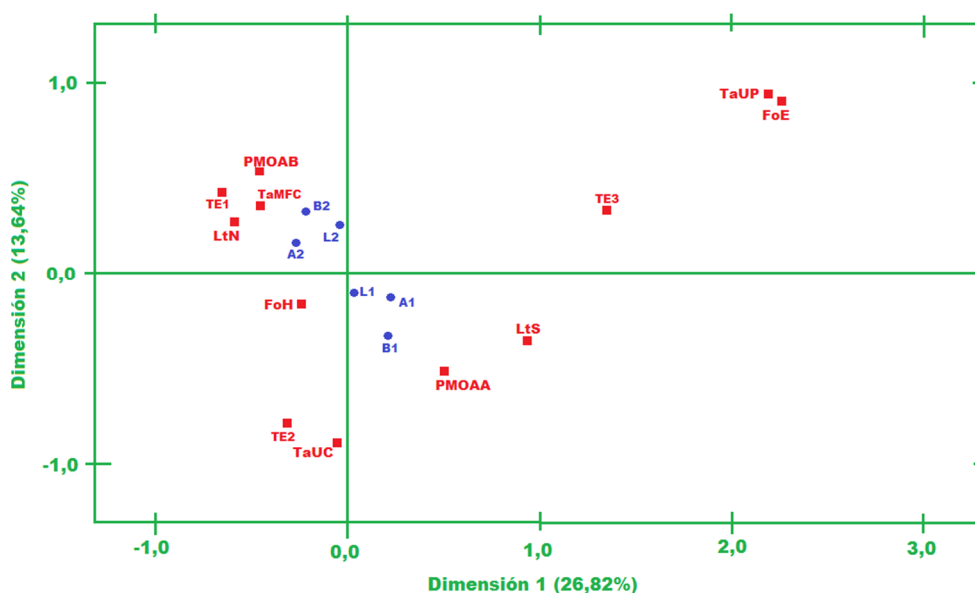


Figura 27. Análisis de correspondencias de las variables estudiadas según el manejo de la alimentación, la dimensión productiva y la producción media por oveja y año (cuadrados rojos donde LtN= no aplica lotes de alimentación, LtS= aplica lotes de alimentación; TaUC= unifeed comercial, TaUP= unifeed propio, TaMFC =mezcla de forraje y concentrado; FoH= forraje henificado, FoE= forraje ensilado; TE1= explotación<600 ovejas, TE2= explotación entre 600-1.200 ovejas, TE3= explotación≥1.00 ovejas; PMOAB< 133 litros/oveja/año, PMOAA≥ 133 litros/oveja/año) y los índices colorimétricos (círculos azules donde L1= baja luminosidad, L2= alta luminosidad; A1= índice de rojo bajo (verde), A2= índice de rojo alto (rojo); B1= índice de amarillo bajo (azul), B2= índice de amarillo alto (amarillo) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.

**RESUMEN**

- ☼ Las características físico-químicas y de color de la leche de tanque de las ganaderías pequeñas y medianas tienen una mayor asociación con las características de manejo de alimentación, que en las ganaderías grandes, cuyo manejo alimentario está más relacionado con las raciones unifeed elaboradas en la propia ganadería y con el uso de forraje ensilado.

**SUMMARY**

- ☼ The physico-chemical and colorimetric characteristics of bulk-tank milk from small and medium-sized farms have a greater association with all the parameters of feeding management than in the case of large-size farms, whose feeding management is more related with self-made unifeed and the use of silage fodder.

## CAPÍTULO 8

### ESTUDIO DE LA CALIDAD HIGIÉNICO-SANITARIA DE LA LECHE DE TANQUE Y SU RELACIÓN CON LAS CARACTERÍSTICAS PRODUCTIVAS DE LA RAZA OVINA MANCHEGA.

#### CONTENIDOS

---

<b>8.1.</b> Descripción de la microbiología diferencial y del recuento de células somáticas de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	<b>127</b>
<b>8.2.</b> Correlaciones entre las características microbiológicas y el recuento de células somáticas de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	<b>137</b>
<b>8.3.</b> Factores de variación que afectan a los distintos grupos microbianos y células somáticas en leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.	
<b>8.3.1.</b> Factores relacionados con las características generales de las ganaderías y con la estación del año .....	<b>142</b>
<b>8.3.2.</b> Factores relacionados con la sala de ordeño y la lechería.....	<b>157</b>
<b>8.3.3.</b> Factores relacionados con la prevención y control de infecciones intramamarias.....	<b>168</b>
<b>8.4.</b> Análisis de correspondencias entre las categorías de las distintas características microbiológicas y recuento de células somáticas en leche de tanque y los factores relacionados con el sistema productivo de las ganaderías de raza ovina Manchega.	
<b>8.4.1.</b> Análisis de correspondencias entre los grupos de gérmenes generales y específicos.....	<b>175</b>
<b>8.4.2.</b> Análisis de correspondencias entre los gérmenes representantes y los factores relacionados con la alimentación e higiene de las ovejas de ordeño .....	<b>176</b>
<b>8.4.3.</b> Análisis de correspondencias entre los gérmenes representantes y los factores relacionados con la sala de ordeño y la lechería.....	<b>178</b>
<b>8.4.4.</b> Análisis de correspondencias entre los gérmenes representantes y los factores relacionados con la prevención y control de infecciones intramamarias.....	<b>179</b>

---





### 8.1. DESCRIPCIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS Y EL RECuento DE CÉLULAS SOMÁTICAS DE LECHE DE TANQUE DE LAS GANADERÍAS DE RAZA OVINA MANCHEGA.

Los resultados de los distintos grupos microbianos estudiados en leche de tanque se exponen en la **Tabla 16**, distinguiendo entre grupos microbianos generales y específicos.

**Tabla 16. Estadísticos descriptivos de las características microbiológicas y el recuento de células somáticas de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega (n=308).**

				PERCENTIL			IC 95%	
	Media	DS	CV	P25	P50	P75	Inferior	Superior
<b>MICROBIOLOGIA<sup>1</sup></b>								
MESO	5,68	0,77	13,56	5,15	5,57	6,18	5,59	5,77
TERMO	3,25	0,86	26,60	2,69	3,14	3,73	3,15	3,35
PSICRO	5,25	1,08	20,60	4,57	5,22	6,02	5,11	5,38
PSEUDO	3,14	0,84	26,65	2,65	3,14	3,72	3,04	3,23
ECOLI	1,68	1,14	67,47	1,18	1,80	2,32	1,55	1,10
COLI	2,93	1,17	40,08	2,36	3,03	3,67	2,79	3,06
BAL	4,90	0,72	14,73	4,31	4,94	5,40	4,82	4,98
CGPCN	4,16	0,81	19,49	3,53	4,18	4,82	4,07	4,25
BAB	3,41	0,62	18,23	2,96	3,36	3,63	3,34	3,48
SCP	2,50	1,37	55,01	1,90	2,78	3,45	2,34	2,65
SCN	4,32	0,55	12,72	4,08	4,28	4,55	4,26	4,38
RCST	6,02	0,23	3,85	5,88	6,03	6,17	6,00	6,05

DS= desviación estándar; CV= coeficiente de variación ; P (25,50 y 75): Percentiles 25, 50 y 75, respectivamente; IC 95%: intervalo de confianza al 95%; <sup>1</sup>MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas spp.*, ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= estafilococos coagulasa positivos, SCN= estafilococos coagulasa negativos, RCST= recuento de células somáticas de leche de tanque (MESO, TERMO, PSICRO, PSEUDO, ECOLI, COLI, BAL, CGPCN, SCP, SCN=logaritmo ufc/mL, BAB= logaritmo esporas/L, RCST= logaritmo cel/mL).

Los grupos microbianos generales son los siguientes: gérmenes mesófilos totales (MESO), que son utilizados habitualmente en los sistemas de control de calidad de la leche, gérmenes resistentes a la pasteurización o termodúricos (TERMO) y gérmenes que crecen en condiciones de refrigeración o psicrotrofos (PSICRO).

El valor medio para el recuento de MESO ha sido de 5,68 log ufc/mL (media geométrica de 478.630 ufc/mL), con un coeficiente de variación de 13,56. Este resultado es similar a la media de 5,36 log ufc/mL señalada por [De Garnica y cols. \(2011\)](#), aunque superior a lo señalado por [Rodríguez-Nogales y cols. \(2007\)](#) en diferentes razas españolas (Assaf: 4,89 log ufc/mL; Castellana: 4,99 ufc/mL; Churra: 4,86 ufc/mL). En la distribución de las muestras (**Figura 28A**) se observa que un 20% presentan valores inferiores a 5,00 log ufc/mL (100.000 ufc/mL), evidenciando una buena calidad microbiológica de la leche, indicativa de bajas concentraciones de otros grupos bacterianos [De Garnica y cols. \(2013b\)](#). Asimismo, un 60% de las muestras tienen valores  $\leq 5,70$  log ufc/mL (500.000

ufc/mL), límite establecido en el [Reglamento CE nº 853/2004](#) para la leche cruda destinada a la elaboración de productos lácteos sin tratamiento térmico previo.

El recuento de TERMO ha sido de 3,25 log ufc/mL (media geométrica= 1.778 ufc/mL), con un coeficiente de variación de 26,60. Este recuento es superior al citado por [De Garnica y cols. \(2011\)](#) y por [Jayarao y cols. \(2004\)](#), con recuentos medios de 2,41 y 2,09 log ufc/mL en leche de tanque de ovino y vacuno, respectivamente. Asimismo, la **Figura 28B** recoge la distribución para TERMO, observándose una mayor concentración de muestras (78%) entre 2,01 y 4,00 log ufc/mL (entre 102 y 10.000 ufc/mL). La presencia de determinados gérmenes termodúricos se asocia con deficientes prácticas de manejo y ordeño ([De Garnica y cols. 2013c](#)) y con la aparición de defectos de textura y de sabor en quesos ([Vissers y cols., 2009](#)).

En cuanto al recuento de PSICRO, la media registrada ha sido de 5,25 log ufc/mL (media geométrica= 178.000 ufc/mL), con un coeficiente de variación de 20,60. Este resultado es inferior al señalado por [De Garnica y cols. \(2013c\)](#) en leche de tanque de granjas de ovino de Castilla y León (5,70 log ufc/mL). La distribución porcentual del recuento de PSICRO (**Figura 28C**) muestra una mayor concentración de muestras (65%) con valores entre 4,01-6,00 log ufc/mL (entre 10.233 y 1.000.000 ufc/mL). Además, aproximadamente el 60% de las muestras presentan unos valores para PSICRO iguales y/o inferiores a 200.000 ufc/mL (5,30 log ufc/mL), límite marcado por [De Garnica y cols. \(2013c\)](#) para indicar una calidad adecuada de la leche de tanque con respecto a estos microorganismos.

Cabe señalar que, teniendo en cuenta el coeficiente de variación, los recuentos de TERMO y PSICRO presentan resultados más heterogéneos en torno a la media que el recuento de MESO, en la misma línea de los resultados de [De Garnica y cols. \(2013c\)](#).

Por último, se puede indicar que el recuento de PSICRO es inferior al de MESO, a diferencia de lo señalado por [De Garnica y cols. \(2013c\)](#), quienes obtuvieron recuentos de PSICRO superiores a los de MESO en leche de tanque en Castilla y León. La contaminación de bacterias del grupo de los PSICRO, que crecen más fácilmente en condiciones de refrigeración, dependería no sólo de las condiciones higiénico-sanitarias de las ganaderías, sino también de la periodicidad de recogida de la leche e incluso de las condiciones de refrigeración ([De Oliveira y cols., 2015](#)).

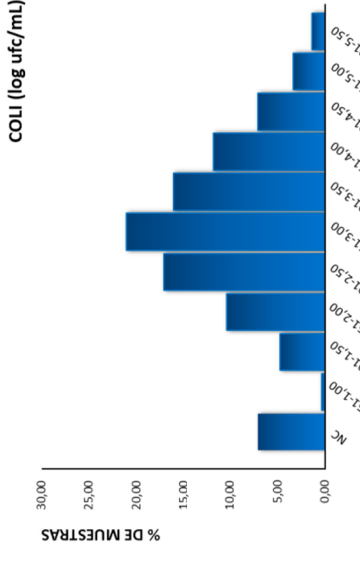
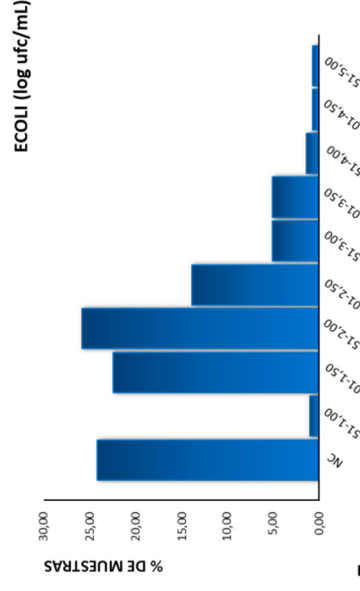
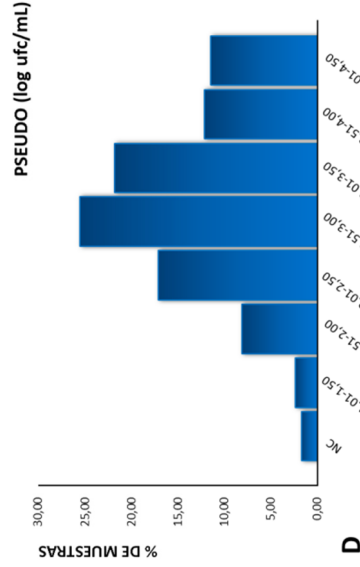
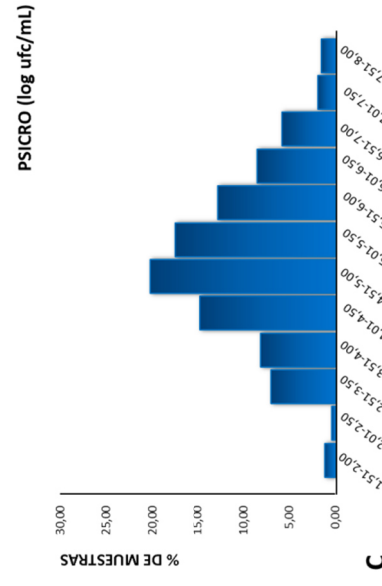
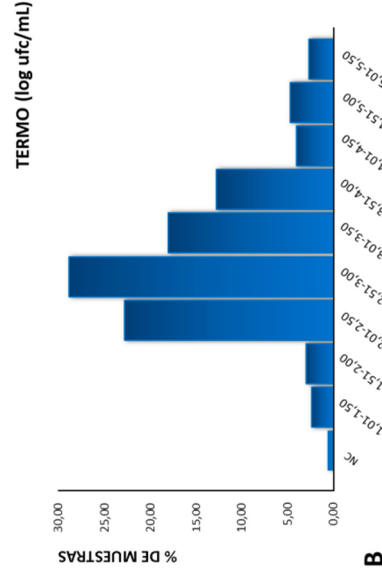
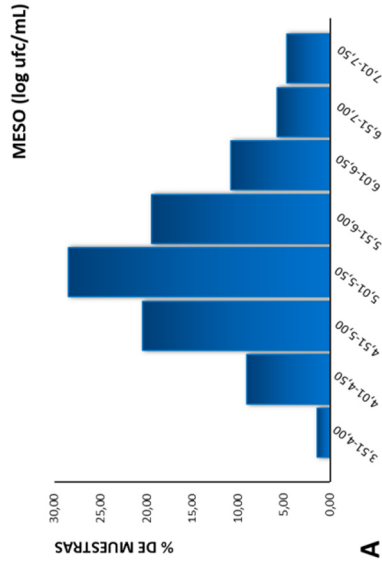


Figura 28. Frecuencia de distribución del recuento de MESO (mesófilos, A); TERMO (termofílicos, B); PSICRO (psicrófilos, C); PSEUDO (*Pseudomonas* spp., D); ECOLI (*Escherichia coli*, E), COLI (coliformes distintos de *Escherichia coli*, F) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega; (NC= no crecimiento).

La determinación de los gérmenes totales es considerada poco específica por diversos autores para determinar la calidad microbiológica de la leche (Jayarao y cols., 2004; De Garnica y cols., 2013b). Estos autores indican que debería complementarse con recuentos diferenciales de microorganismos, para determinarla de forma más objetiva. En la **Tabla 16** se presentan también los resultados de los siguientes grupos microbianos diferenciales:

- 🧫 Gérmenes indicadores de las condiciones higiénicas de las ganaderías: *Pseudomonas* spp. (PSEUDO), *Escherichia coli* (ECOLI) y otros coliformes distintos de *Escherichia coli* (COLI).
- 🧫 Gérmenes relacionados con la calidad tecnológica de la leche: bacterias ácido lácticas (BAL), cocos gram-positivos catalasa-negativos (CGPCN) y esporas butíricas (BAB).
- 🧫 Gérmenes relacionados con la sanidad mamaria: estafilococos coagulasa positivos (SCP) y estafilococos coagulasa negativos (SCN).

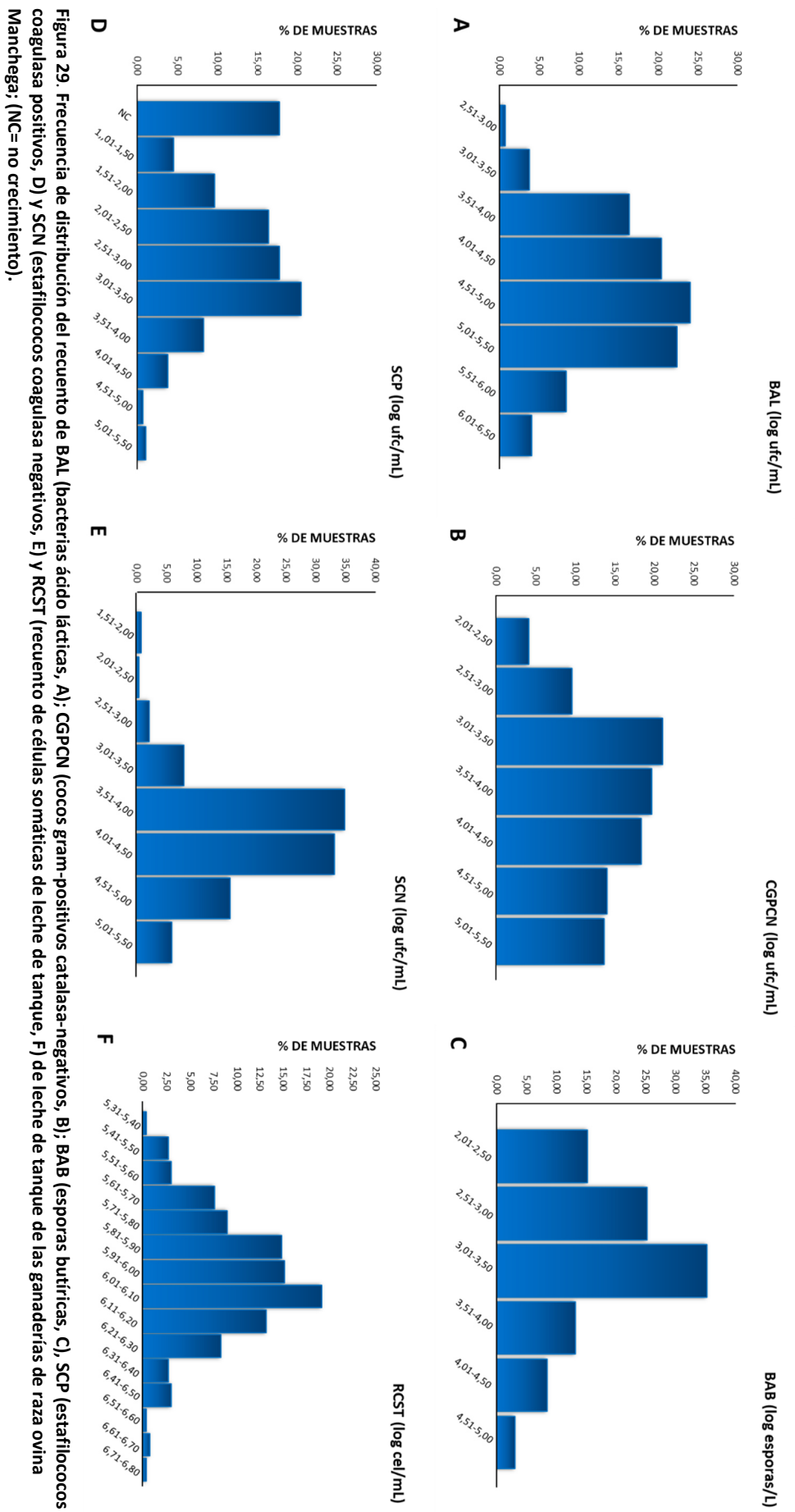
El valor medio del recuento de PSEUDO ha sido de 3,14 log ufc/mL (media geométrica= 1.380 ufc/mL) y un coeficiente de variación de 26,65. El resultado es similar a otros trabajos en leche de oveja en Grecia e Italia (3,00 log ufc/mL y 3,65 log ufc/mL, respectivamente) (Kondyli y cols., 2012; Faccia y cols., 2015), aunque inferiores a los obtenidos en otros estudios realizados en vacuno (4,47 log ufc/mL) (Pinto y cols., 2006). El género PSEUDO engloba a microorganismos predominantes en leche almacenada a baja temperatura y aparecen en grandes cantidades en muestras con altos recuentos de psicrotrofos ( $4,0 \times 10^5$ - $3,1 \times 10^7$  ufc/mL) (De Almeida y cols., 2017). Estos gérmenes se multiplican rápidamente en el tanque, por su alto grado de adaptabilidad fisiológica y genética, provocando una disminución de la vida útil de la leche, alteración de sus propiedades de coagulación, y la aparición de sabores amargos y/o rancios, debido principalmente a la capacidad de producir enzimas proteolíticas y lipolíticas (Jayarao y Wang, 1999; Spiers y cols., 2000; Richter y Vedamuthu, 2001; De Jonghe y cols., 2011). Jayarao y Wang (1999) destacaron la importancia de este grupo microbiano en la leche de tanque de vacuno, siendo *Pseudomonas fluorescens* el microorganismo aislado en mayor proporción en el total de muestras analizadas, ya que posee la capacidad de formar biofilms que le permite resistir durante largos periodos a lo largo del circuito de ordeño (máquina de ordeño, conductos, tanques, etc.).

Los valores medios de recuentos de ECOLI y COLI se muestran en la **Tabla 16**, siendo estos microorganismos indicadores de las deficientes condiciones higiénicas de las ganaderías y de contaminación fecal (Jayarao y cols., 2004; Elmoslemany y cols., 2009b). El recuento de *Escherichia coli* (ECOLI) es de 1,68 log ufc/mL (media geométrica=50 ufc/mL), con un coeficiente de variación de 67,47, el mayor de los distintos gérmenes estudiados. La distribución porcentual de los recuentos de ECOLI ha sido heterogénea (**Figura 28E**), registrándose recuentos entre 1,01 y 2,50 ufc/mL (entre 10,24 y 316,23 ufc/mL) en el 67% de las muestras analizadas y ausencia de crecimiento en el 24% de ellas. La media para ECOLI fue inferior a la señalada por De Garnica y cols. (2011): 2,38 ufc/mL y un

coeficiente de variación de 44,10. Alexandraki y cols. (2016) señalan también una gran variabilidad entre los valores máximos y mínimos del recuento de ECOLI (0,51-5,00 log ufc/mL), debido a los diferentes sistemas productivos de las explotaciones, lo que explicaría la variabilidad del presente estudio. Por otro lado, la media para el recuento de COLI ha sido de 2,93 log ufc/mL (media geométrica= 851 ufc/mL) y un coeficiente de variación de 40,08. Este resultado es inferior al obtenido por De Garnica y cols. (2011) para recuentos totales de coliformes (3,45 ufc/mL), donde también se incluye *Escherichia coli*. Sevi y cols. (2000), en muestras de leche individual, obtuvieron un valor medio de 3,60 ufc/mL para coliformes totales, superior al registrado en nuestro estudio. Además, la distribución porcentual de las muestras es muy heterogénea para el recuento de COLI (**Figura 28F**), con recuentos entre 0 y 5,50 log ufc/mL. Jayarao y cols. (1999) también señalaron recuentos muy heterogéneos (entre 0 y 4,70 log ufc/mL), destacando la importancia de su detección como indicador de la calidad de la leche.

La media para el recuento de BAL es de 4,90 log ufc/mL (media geométrica= 79.432 ufc/mL), superior al de otros estudios en ovino (Pérez Elortondo y cols., 1999; Centi y cols., 2017). El estudio de frecuencias (**Figura 29A**) indican que el 83% de las muestras están en el rango entre 3,51-5,50 log ufc/mL, niveles muy estimables para este grupo de microorganismos. Este grupo de microorganismos es muy importante desde el punto de vista de la tecnología quesera, siendo esenciales en los procesos de fermentación del queso, y en el desarrollo del aroma y sabor característicos de éstos (Poveda y cols., 2004). No obstante, convendría discriminar las bacterias lácticas que poseen acciones beneficiosas de aquellas que podrían generar efectos negativos, como por ejemplo la producción de aminas biógenas (Zuljan y cols., 2016)

En cuanto al grupo de CGPCN, la media aritmética es de 4,16 log ufc/mL (media geométrica= 14.454 ufc/mL), con un coeficiente de variación de 19,49. Este resultado es superior al señalado por De Garnica y cols. (2013c), con recuentos medios de 2,95 log ufc/mL. El estudio de frecuencias (**Figura 29B**) indican que el 86% de las muestras están en el rango entre 3,01-5,50 log ufc/mL, siendo de destacar el alto nivel de contaminación de estos gérmenes. Dentro de este grupo han sido descritos numerosas especies (*Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus* y *Aerococcus*), donde se incluyen tanto bacterias patógenas como aquellas cuya influencia es importante en la maduración y coagulación de productos derivados de la leche (Franz y cols., 2003; Jayarao y Wolfgang, 2003).



La media para el grupo de las BAB es de 3,41 log esporas/L (media geométrica= 2.570 esporas/L). Este recuento es similar a la media de 3,29 log esporas /L (media geométrica=1.950 esporas/L) señalada en leche de tanque de oveja Manchega por [Arias y cols. \(2013\)](#), aunque inferior al valor encontrado por [Garde y cols., 2011](#) (4,16 log esporas/L), diferencia que podría deberse a la diversidad de sistemas de manejo de las ganaderías en cada estudio. El estudio de frecuencias (**Figura 29C**) indica que el 60% de las muestras están en el rango entre 2,51-3,50 log ufc/mL. La determinación de los niveles de esporas butíricas en leche reviste mucho interés al ser los microorganismos causantes de un problema tecnológico, la hinchazón tardía en quesos de pasta prensada, que provoca importantes pérdidas económicas en el sector ([Arias y cols., 2013](#)).

Por último, se han determinado los niveles de estafilococos, por su relación con la sanidad mamaria. Se han diferenciado dos grupos de acuerdo a lo especificado por [Jayarao y cols. \(2004\)](#): estafilococos coagulasa positivos (SCP) y negativos (SCN).

La media para los SCP es de 2,50 log ufc/mL (media geométrica= 316 ufc/mL), con un alto coeficiente de variación de 55,01. Este recuento es similar a los resultados de anteriores estudios en leche de tanque de oveja Manchega ([Jiménez y cols., 2014](#)) y en oveja en Castilla y León ([De Garnica y cols., 2011](#)), aunque en éste último caso el coeficiente de variación fue menor que los estudios en oveja Manchega. El estudio de frecuencias (**Figura 29D**) indican que el 34% de las muestras presentan recuentos superiores a 3,01 log ufc/mL, y un 18% de muestras de leche sin crecimiento.


El valor medio para el recuento de los SCN ha sido de 4,32 log ufc/mL (media geométrica= 20.892 ufc/mL), con un coeficiente de variación de 12,72. Resultados similares han sido citados en anteriores estudios en leche de tanque de oveja Manchega por [Jiménez y cols. \(2014\)](#). El estudio de frecuencias (**Figura 29E**) indican que el 83% de las muestras están en el rango entre 3,51-5,00 log ufc/mL. El incremento en la proporción de éstos microorganismos podría deberse a la facilidad que tienen para desarrollarse en sistemas de producción más intensivos, tal y como señala [Marogna y cols. \(2010\)](#) en un estudio de oveja Sarda. Estos autores apuntan que el desarrollo de los SCN se encuentra ligado a los cambios que han experimentado las ganaderías, que han evolucionado hacia la intensificación. Otra explicación para el incremento de los SCN podría estar relacionada con la aplicación en las ganaderías de medidas eficaces frente a SCP, que en la actualidad es considerado el agente más prevalente en relación con las mamitis en ovino lechero ([Ariznabarreta y cols., 2002](#); [Albenzio y cols., 2002](#); [Makovec y Ruegg, 2003](#); [Sampimon y cols., 2004](#); [Marogna y cols., 2010](#)).

Por último, se puede señalar que la media para el recuento de células somáticas de leche de tanque (RCST) es de 6,02 log cel/mL (media geométrica=  $1.047 \times 10^3$  cel/mL), con un 75 % de las muestras con un valor igual o inferior a 6,17 log cel/mL ( $1.500 \times 10^3$  cel/mL). El mayor porcentaje de muestras (87%) se encuentra concentrado en un recuento de entre 5,61 y 6,30 log cel/mL (407.380 cel/mL y 1.995.262 cel/mL) (**Figura 29F**). Este recuento también se encuentra en la línea de otros trabajos

presentados para la leche de la totalidad de rebaños de Castilla-La Mancha (Arias, 2009), e inferiores a los de Leitner y cols. (2016) para otras razas de ovino lechero. Del estudio en función de los rangos de RCST propuestos por Ariznabarreta (1999), se obtiene que un 13,53% de las muestras corresponderían a rebaños con una buena situación sanitaria frente las infecciones intramamarias ( $RCST < 500.000$  cels/mL), mientras que un 38,94% de los recuentos revelaría una mediocre situación ( $RCST = 500.000-1.000.000$  cel/mL) y un 47,52% de los recuentos revelaría una deficiente situación de la sanidad mamaria de las ganaderías ( $RCST \geq 1.000.000$  cel/mL). Al comparar esta distribución con la obtenida por Arias (2009) para ganaderías de Castilla-La Mancha, se observa un porcentaje inferior de rebaños con una deficiente situación sanitaria en el presente estudio respecto al del citado autor (47% vs 65%), pero hay un aumento de las ganaderías en condiciones mediocres (38% vs 24%), y un nivel similar de las ganaderías con buen estado de la sanidad mamaria (15% vs 11%). Esta relativa mejora, se debe a una mayor concienciación por parte del ganadero para la implementación de medidas preventivas de infecciones intramamarias, aunque aún hay que seguir trabajando para mejorar estos índices.




## RESUMEN

 **Recuentos de microorganismos generales:** Para la estimación de las condiciones higiénico-sanitarias de las ganaderías:

- **Gérmenes mesófilos totales (MESO):** Valor medio de 5,68 log ufc/mL, con un 60% de las muestras con recuentos < 500.000 ufc/mL, límite del Reglamento CE 853/2004, para elaboración de quesos con leche sin tratamiento térmico.
- **Termodúricos (TERMO):** Valor medio de 3,25 log ufc/mL, superior al de otros estudios en leche de ovino y vacuno, con un 78% de muestras con recuentos entre  $10^2$  y  $10^4$  ufc/mL.
- **Psicótrofos (PSICRO):** Valor medio de 5,25 log ufc/mL, inferior a otros estudios. El 60% de las muestras presentan recuentos ≤ 200.000 ufc/mL, límite marcado por De Garnica y cols. (2013b) para indicar una calidad adecuada de la leche de tanque con respecto a estos microorganismos.

 **Recuentos de microorganismos diferenciales:**

- **Indicadores de las condiciones higiénicas de ganaderías:**
  - ***Pseudomonas* spp. (PSEUDO):** El recuento medio de 3,14 log ufc/mL, similar a los niveles descritos en ovino y menores a los de vacuno lechero.
  - **Coliformes:** Los resultados son inferiores a otros estudios en ovino, aunque existe una gran variedad en las condiciones higiénicas de las ganaderías:
    - ***Escherichia coli* (ECOLI):** Recuento medio de 1,68 log ufc/mL, el más bajo de todos los gérmenes estudiados, aunque con el mayor coeficiente de variación.
    - **Otros coliformes distintos de *Escherichia coli* (COLI):** Valor medio de 2,93 log ufc/mL, con una distribución porcentual también muy amplia.
- **Gérmenes de origen ambiental de interés en la tecnología quesera:**
  - **Bacterias lácticas (BAL):** Recuento medio de 4,90 log ufc/mL, superior a los de otros estudios en leche de tanque de oveja, y con un discreto coeficiente de variación.
  - **Cocos gran positivos coagulasa negativos (CGPCN):** Recuento medio de 4,16 log ufc/mL, también superior a los de otros estudios en leche de oveja.
  - **Esporas butíricas del género *Clostridium* (BAB):** Valor medio de 3,41 log esporas/L, similar a otros estudios en leche de tanque, lo que indica el riesgo de casos de hinchazón tardía en quesos de pasta prensada como el queso Manchego.
- **Gérmenes relacionados con infecciones intramamarias:**
  - **Estafilococos coagulasa positivos (SCP):** Con un valor medio de 2,50 log ufc/mL, similar al de otros estudios en ovino lechero, y un elevado coeficiente de variación, lo que indica el comportamiento de estos gérmenes relacionados con las mastitis clínicas en ovino lechero.
  - **Estafilococos coagulasa negativos (SCN):** Recuento medio de 4,32 log ufc/mL, en la línea de otros estudios, y un menor coeficiente de variación que los SCP.

 **Recuentos de células somáticas de leche de tanque:** El valor medio es de 6,02 log cel/mL. En general, la situación ha mejorado en las últimas décadas disminuyendo el porcentaje de ganaderías con una deficiente situación sanitaria. No obstante, aún se requiere un mayor esfuerzo para rebajar los niveles, sobre todo de las ganaderías con recuentos superiores a 1.000.000 cel/mL.

### SUMMARY

- 👤 **General microbial counts:** for the estimation of the hygienic-sanitary conditions of farms:
  - **Total bacterial count (MESO):** the mean value is 5.68 log cfu/mL, with 60% of the samples with counts < 500,000 cfu/mL, the limit established by Regulation (EC) 853/2004, for the production of cheeses with raw milk by a process that does not involve any heat treatment.
  - **Thermotolerant (TERMO):** the mean value is 3.25 log cfu/mL, higher than in other studies in sheep and cow milk, with 78% of the samples with counts between  $10^2$  y  $10^4$  cfu/mL.
  - **Psychrotrophs (PSICRO):** the mean value is 5.25 log cfu/mL, lower than other studies. The 60% of the samples have counts  $\leq 200,000$  cfu/mL, the limit established by Garnica et al. (2013) to indicate an adequate quality of bulk-tank milk with respect to these microbial count.
- 👤 **Differential microbial counts:**
  - **Indicators of hygienic conditions of the farms:**
    - ***Pseudomonas* spp. (PSEUDO):** the mean count is 3.14 log cfu/mL, similar than the levels registered in dairy sheep, and lower than in dairy cow.
    - **Coliforms:** the results are lower than in other studies in dairy sheep, although the count shows high variability:
      - ***Escherichia coli* (ECOLI):** the mean count is 1.68 log cfu/mL, the lowest of all microorganisms studied, although with the highest coefficient of variation.
      - **Coliforms other than *Escherichia coli* (COLI):** the mean value is 2.93 log cfu/mL, with a wide percentage of distribution too.
  - **Environmental microorganisms of interest in cheese technology:**
    - **Lactic Acid Bacteria (BAL):** the mean count is 4.90 log cfu/mL, higher than in other studies in sheep's bulk-tank milk, and with a low coefficient of variation.
    - **Gram-positive catalase-negative cocci (CGPCN):** the mean count is 4.16 log cfu/mL, higher than in other studies in sheep's milk.
    - **Spores of butyric acid bacteria (BAB):** the mean value is 3.41 log spores/L, similar than in other studies in bulk-tank milk, indicating the risk of developing "late blowing" in pressed cheeses as Manchego cheese.
  - **Microorganisms related to intramammary infections:**
    - **Coagulase-positive staphylococci:** the mean value is 2.50 log cfu/mL, similar than in other studies in dairy sheep, and with a high coefficient of variation, indicating the changing behavior of these count related to clinical mastitis in dairy sheep.
    - **Coagulase-negative staphylococci:** the mean count is 4.32 log cfu/mL, in line with other studies, and with a lower coefficient of variation than coagulase-positive staphylococci.
- 👤 **Bulk-tank milk somatic cell counts:** the mean value is 6.02 log cell/mL. Overall, the situation has improved in recent decades, reducing the percentage of farms with poor health status. However, further efforts are still required to lower the levels, especially for farms with counts above 1,000,000 cell/mL.

## **8.2. CORRELACIONES ENTRE LAS CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS Y EL RECUESTO DE CÉLULAS SOMÁTICAS DE LECHE DE TANQUE DE LAS GANADERÍAS DE RAZA OVINA MANCHEGA.**

Un aspecto importante a tener en cuenta es la relación que los distintos grupos microbianos tienen entre sí en la leche de tanque de oveja (**Tabla 17**).

En general, el recuento de MESO presenta una correlación significativa y positiva con el resto de recuentos microbianos, excepto con el recuento de SCP ( $p>0,05$ ), indicando que el recuento de estos gérmenes totales aporta escasa información sobre la presencia de SCP en leche de tanque. Esto podría explicarse por la dificultad que poseen éstas bacterias para crecer en los medios de cultivo generales, tal y como han señalado algunos autores en vacuno ([Bradley y cols., 2007](#); [Taponen y cols., 2009](#)). Hay que destacar además la alta correlación entre MESO y PSICRO ( $r=0,64$ ;  $p<0,001$ ), en la línea de otros estudios realizados en ganado vacuno ([Cempírková 2002](#)). Además, se encuentran correlaciones medias con gérmenes TERMO, PSEUDO, BAL, COLI, CGPCN y RCST ( $p<0,001$ ). [Jayarao y cols. \(2004\)](#) han obtenido, en vacuno lechero, correlaciones medias entre mesófilos y gérmenes termodúricos, coliformes y estreptococos ambientales. Algunos autores ([Gonzalo y cols., 2006](#); [Garnica y cols., 2013b](#)) han evidenciado la correlación positiva entre MESO Y RCST, y por tanto con la salud de la ubre, siendo de utilidad esta información para la toma de decisiones en programas de mejora de calidad de la leche. Sin embargo, las correlaciones entre MESO y microorganismos más específicos ECOLI, SCN ó BAB son poco apreciables, revelando la escasa información que la determinación de MESO en leche de tanque aporta para gérmenes indicadores del estado higiénico de la ganadería (ECOLI), de la aptitud tecnológica de la leche (BAB) o del estado sanitario (SCN).

Además, se han obtenido correlaciones intermedias entre gérmenes termodúricos (TERMO) y PSICRO, BAL y CGPCN, y correlaciones bajas con BAB ( $r=0,16$ ;  $p<0,001$ ). Esta baja correlación puede deberse a la presencia de microorganismos aerobios esporulados (*Bacillus*), considerado como el grupo microbiano más numeroso en leche sometida a tratamiento térmico ([Huck y cols., 2007](#)).

Los microorganismos PSICRO presentan también correlaciones medias con COLI, BAL, PSEUDO y CGPCN ( $p<0,001$ ), revelando la diversidad de microorganismos tanto gram positivos como gram negativos con capacidad de crecimiento en condiciones de refrigeración ([Ubeyratne y cols., 2014](#)).

Las correlaciones entre los microorganismos relacionados con la sanidad mamaria y el resto de microorganismos de grupos generales y diferenciales, son inexistentes para SCP y escasamente relevantes para SCN, siendo la correlación más alta entre SCN y BAL ( $r=0,36$ ;  $p<0,001$ ). En otros estudios en caprino se han obtenido correlaciones intermedias entre SCP y el grupo de otros coliformes, así como con algunos grupos de bacterias lácticas ([Foschino y cols., 2002](#)).

Tabla 17. Coeficientes de correlación entre las características microbiológicas y el recuento de células somáticas de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.

PARÁMETROS <sup>1</sup>	MESO	TERMO	PSICRO	PSEUDO	ECOLI	COLI	BAL	CGPCN	BAB	SCP	SCN	RCST
MESO	1	0,45***	0,64***	0,32***	0,13*	0,35***	0,38***	0,40***	0,19***	0,08 <sup>NS</sup>	0,17**	0,45***
TERMO		1	0,41***	0,26***	0,18**	0,27***	0,40***	0,39***	0,16**	-0,05 <sup>NS</sup>	0,12*	0,11 <sup>NS</sup>
PSICRO			1	0,33***	0,15*	0,40***	0,35***	0,32***	0,06 <sup>NS</sup>	0,13*	0,12*	0,19**
PSEUDO				1	0,25***	0,60***	0,50***	0,51***	0,01 <sup>NS</sup>	0,08 <sup>NS</sup>	0,21***	0,11 <sup>NS</sup>
ECOLI					1	0,18**	0,35***	0,31***	0,01 <sup>NS</sup>	0,03 <sup>NS</sup>	0,27***	0,11 <sup>NS</sup>
COLI						1	0,47***	0,36***	0,13*	0,06 <sup>NS</sup>	0,14*	0,15**
BAL							1	0,63***	0,12*	0,12*	0,36***	0,19**
CGPCN								1	0,06 <sup>NS</sup>	0,13*	0,23***	0,09 <sup>NS</sup>
BAB									1	0,02 <sup>NS</sup>	0,06 <sup>NS</sup>	0,15*
SCP										1	0,16**	0,19**
SCN											1	0,37***
RCST												1

<sup>1</sup>MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrotos, PSEUDO= *Pseudomonas* spp., ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= estafilococos coagulasa positivos, SCN= estafilococos coagulasa negativos, RCST: logaritmo del recuento de células somáticas de leche de tanque; \*\*\*p<0,001, \*\*p<0,01, \*p<0,05, <sup>NS</sup>p>0,05.

Las correlaciones significativas ( $p < 0,001$ ) del grupo de BAL con los CGPCN ( $r = 0,63$ ), PSEUDO ( $r = 0,50$ ) y con los COLI ( $r = 0,47$ ), indican la estrecha relación entre los distintos niveles de microorganismos ambientales en la leche de tanque.

Además, al analizar la relación entre RCST y los distintos recuentos microbianos hay que señalar la correlación intermedia y positiva entre RCST y SCN ( $r = 0,37$ ;  $p < 0,001$ ), [Gonzalo y cols. \(2002\)](#), indican la importante respuesta celular mediada por las mastitis causadas en ovejas por estafilococos coagulasa negativos, habiendo sido también descrito en vacuno lechero ([Pyörälä y cols., 2009](#)). Además, existe una menor correlación entre el recuento de células somáticas y el grupo SCP ( $r = 0,19$ ), indicando una menor repercusión del aumento de células somáticas en leche de tanque mediada por las infecciones intramamarias causadas por SCP que por SCN. También se muestran correlaciones bajas entre RCST y otros grupos específicos, como PSICRO, COLI, BAL y BAB; [De Garnica y cols. \(2013c\)](#), en leche de tanque de oveja, también muestra correlaciones bajas entre RCST y gémenes psicrotrofos, coliformes, cocos gram positivo coagulasa negativos, etc., explicando que esta falta de relación se debería a que son microorganismos de origen ambiental y menos prevalentes en las infecciones intramamarias. En esta línea, en caprino lechero, el estudio de [Foschino y cols. \(2002\)](#) no encuentra relación entre RCST y distintos grupos específicos de bacterias (SPC, coliformes, enterococos, etc.).

### RESUMEN



#### Correlaciones entre los grupos microbianos generales:

- Las correlaciones entre mesófilos totales y los grupos generales termodúricos y psicrotrofos son positivas, de especial relevancia con PSICRO ( $r=0,64$ ), siendo menores ( $r=0,32-0,40$ ) con la gran mayoría de los grupos indicadores de higiene y de origen ambiental (PSEUDO, COLI, BAL, CGPCN), bajas con BAB ó SCN, e inexistente con SCP.
- Las correlaciones entre los grupos generales TERMO ó PSICRO y el resto de los grupos diferenciales, se comportan de forma similar que con MESO.



#### Correlaciones entre los grupos microbianos diferenciales:

- Las correlaciones entre la mayoría de los grupos indicadores de higiene de la ganadería y de origen ambiental (PSEUDO, COLI, BAL, CGPCN) son positivas, y elevadas entre PSEUDO y COLI ( $r=0,60$ ) o entre BAL y CGPCN ( $r=0,63$ ).
- No existe correlación o es baja entre el recuento de esporas butíricas (BAB) y el resto de grupos indicadores de higiene de la ganadería y de origen ambiental (PSEUDO, COLI, BAL, CGPCN).
- Las correlaciones entre los microorganismos relacionados con la sanidad mamaria y el resto de microorganismos de grupos generales o diferenciales, son inexistentes en caso de SCP y escasamente relevantes en caso de SCN, siendo la correlación más alta entre SCN y BAL ( $r=0,36$ ).



#### Correlaciones entre el recuento de células somáticas de leche de tanque y los grupos microbianos:

- La correlación entre RCST y MESO es intermedia y positiva ( $r=0,45$ ).
- Las correlaciones entre RCST y los microorganismos relacionados con la sanidad mamaria son positivas, de rango medio con SCN ( $r=0,37$ ) y baja con SCP ( $r=0,19$ ).

### SUMMARY

#### **Correlations between general microbial counts:**

- The correlations between total bacterial count and the general groups of thermotolerant and psychrotrophs are positive, of special relevance with PSICRO ( $r=0.64$ ), being medium ( $r=0.32-0.40$ ) with the majority of hygienic and environmental origin indicator groups (PSEUDO, COLI, BAL and CGPCN), lower with BAB or SCN, and non-existent with SCP.
- The correlation between the general microbial groups of TERMO and PSICRO, and the rest of differential microbial groups, behave in a similar way as those commented for MESO.

#### **Correlations between differential microbial counts:**

- The correlations between most of the farm hygienic and environmental origin indicator groups (PSEUDO, COLI, BAL and CGPCN) are positive, and higher between PSEUDO and COLI ( $r=0.60$ ) or between BAL and CGPCN ( $r=0.63$ ).
- There is no correlation or low correlation between the count of spores of butyric acid bacteria (BAB) and the rest of farm hygienic and environmental origin indicator groups (PSEUDO, COLI, BAL, CGPCN).
- The correlations between microorganisms related to mammary health status and the rest of microorganisms of general or differential groups, are non-existent in case of SCP, and scarcely relevant in case of SCN, being the highest correlation between SCN and BAL ( $r=0.36$ ).

#### **Correlations between bulk-tank milk somatic cell counts and microbial counts:**

- The correlation between RCST and MESO is intermediate and positive ( $r=0.45$ ).
- Correlations between RCST and microorganisms related to mammary health status

### **8.3. FACTORES DE VARIACIÓN QUE AFECTAN A LOS DISTINTOS GRUPOS MICROBIANOS Y CÉLULAS SOMÁTICAS EN LECHE DE TANQUE DE LAS GANADERÍAS DE RAZA OVINA MANCHEGA.**

#### **8.3.1. FACTORES RELACIONADOS CON LAS CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS GANADERÍAS Y CON LA ESTACIÓN DEL AÑO.**

El **Modelo Estadístico II** ha sido utilizado para determinar la influencia de distintos factores: estación del año, pertenencia (o no) a la Asociación Nacional de Criadores de Ganado Ovino Selecto de la raza Manchega (AGRAMA), producción media de leche por oveja y año de cada ganadería (PMOA), aplicación de lotes de alimentación por nivel de producción de las ovejas de ordeño, tipo de alimentación, uso de subproductos, tipo de forraje suministrados a las ovejas de ordeño y la higiene del alojamiento, sobre los recuentos microbianos y celulares de la leche de tanque de las ganaderías de oveja Manchega estudiadas (**Tabla 18**). Los resultados de los análisis efectuados para determinar los recuentos microbianos y celulares se muestran en la **Tabla 19**.

#### **Estación del año.**

El factor **estación del año** de toma de muestra de leche afecta significativamente ( $p < 0,05$ ) al recuento de gérmenes psicrotrofos (PSICRO), a gérmenes indicadores del estado higiénico: *Pseudomonas spp.* (PSEUDO), *Escherichia coli* (ECOLI) y otros coliformes distintos de *Escherichia coli* (COLI), a microorganismos de origen ambiental: bacterias lácticas (BAL), cocos gram positivos coagulasa negativos (CGPCN), esporas butíricas (BAB), y a gérmenes relacionados con la sanidad mamaria como los estafilococos coagulasa negativos (SCN), destacando la mayor varianza explicada de la estación para el recuento de PSEUDO (25,20%). Este factor no ha mostrado efecto significativo para mesófilos totales (MESO), gérmenes resistentes a la pasteurización (TERMO), estafilococos coagulasa positivos (SCP), así como para el recuento de células somáticas de leche de tanque (RCST).

Los gérmenes psicrotrofos (PSICRO) muestran recuentos superiores en invierno: 5,20 log ufc/mL (**Figura 30**). Estos tienen un comportamiento similar al recuento de mesófilos totales, siendo los resultados comparables a los de [De Garnica y cols. \(2013b\)](#) en ovino lechero. Estos autores argumentan que estas variaciones se deben a diferencias estacionales en el manejo higiénico-sanitario de la ganadería, aunque otros estudios lo explican por las diferencias estacionales, sobre todo, en el tiempo de almacenamiento y de la temperatura de refrigeración de la leche ([Jayarao y cols., 2003](#); [De Oliveira y cols., 2015](#)). En cualquier caso, el aumento de este grupo de microorganismos podría condicionar la aptitud tecnológica de la leche en invierno debido a la carga enzimática (proteasas, lipasas) que lleva asociada, tal y como defienden otros autores ([Koka y Weimer, 2001](#); [Hantsis-Zacharov y Halpen, 2007](#)).



Tabla 18. Valores de F (% de la varianza explicada) y nivel de significación de los factores de variación relacionados con la estación y las características generales de las ganaderías, estudiados para las características microbiológicas y el recuento de células somáticas de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.

PARÁMETROS <sup>1</sup>		FACTORES DE VARIACIÓN						
	Estación	AGRAMA	PMOA <sup>2</sup>	Lotes de alimentación	Tipo de alimentación	Subproductos	Tipo de forraje	Higiene del alojamiento
MESO	1,85 (1,80) <sup>NS</sup>	2,76 (0,89) <sup>NS</sup>	0,65 (0,21) <sup>NS</sup>	6,00 (1,94)*	0,40 (0,26) <sup>NS</sup>	1,36 (0,44) <sup>NS</sup>	2,47 (0,80) <sup>NS</sup>	8,10 (2,62)**
TERMO	1,34 (1,35) <sup>NS</sup>	2,17 (0,73) <sup>NS</sup>	0,33 (0,11) <sup>NS</sup>	6,81 (2,83)**	1,59 (1,07) <sup>NS</sup>	10,56 (3,54)**	0,62 (0,21) <sup>NS</sup>	11,32 (3,80)***
PSICRO	3,80 (4,34)*	5,17 (1,97)*	0,31 (0,12) <sup>NS</sup>	1,44 (0,55) <sup>NS</sup>	0,03 (0,02) <sup>NS</sup>	1,60 (0,61) <sup>NS</sup>	2,06 (0,79) <sup>NS</sup>	1,24 (0,47) <sup>NS</sup>
PSEUDO	31,11 (25,20)***	1,44 (0,39) <sup>NS</sup>	1,77 (0,48) <sup>NS</sup>	2,83 (0,77) <sup>NS</sup>	2,51 (1,36) <sup>NS</sup>	0,43 (0,12) <sup>NS</sup>	1,64 (0,44) <sup>NS</sup>	1,61 (0,43) <sup>NS</sup>
ECOLI	12,82 (12,27)***	1,96 (0,63) <sup>NS</sup>	3,52 (0,99) <sup>NS</sup>	8,79 (2,81)**	2,49 (1,59) <sup>NS</sup>	0,20 (0,06) <sup>NS</sup>	0,34 (0,11) <sup>NS</sup>	0,60 (0,19) <sup>NS</sup>
COLI	7,77 (7,64)***	0,02 (0,01) <sup>NS</sup>	3,75 (1,23) <sup>NS</sup>	6,62 (2,17)*	0,07 (0,04) <sup>NS</sup>	0,68 (0,22) <sup>NS</sup>	1,04 (0,34) <sup>NS</sup>	4,46 (1,46)*
BAL	10,16 (9,78)***	1,37 (0,44) <sup>NS</sup>	2,26 (0,72) <sup>NS</sup>	7,88 (2,53)**	0,54 (0,35) <sup>NS</sup>	2,95 (0,95) <sup>NS</sup>	0,31 (0,10) <sup>NS</sup>	1,78 (0,57) <sup>NS</sup>
CGPCN	11,68 (11,22)***	2,16 (0,69) <sup>NS</sup>	5,09 (1,63)*	2,89 (0,92) <sup>NS</sup>	0,81 (0,52) <sup>NS</sup>	4,77 (1,53)*	1,22 (0,39) <sup>NS</sup>	2,88 (0,92) <sup>NS</sup>
BAB	4,27 (1,50)**	0,01 (0,09) <sup>NS</sup>	0,56 (0,07) <sup>NS</sup>	7,13 (0,01)**	2,68 (0,15) <sup>NS</sup>	43,56 (0,21)***	2,18 (0,01) <sup>NS</sup>	10,20 (0,27)**
SCP	4,36 (2,65) <sup>NS</sup>	7,81 (2,73)**	0,69 (0,24) <sup>NS</sup>	0,06 (0,02) <sup>NS</sup>	0,19 (0,13) <sup>NS</sup>	1,94 (0,68) <sup>NS</sup>	0,01 (0,01) <sup>NS</sup>	11,13 (3,89)***
SCN	9,67 (9,59)***	7,74 (2,56)**	1,51 (0,50) <sup>NS</sup>	0,95 (0,32) <sup>NS</sup>	0,64 (0,42) <sup>NS</sup>	0,99 (0,33) <sup>NS</sup>	0,56 (0,45) <sup>NS</sup>	0,63 (0,21) <sup>NS</sup>
RCST	0,59 (0,53) <sup>NS</sup>	36,51 (10,84)***	0,05 (0,01) <sup>NS</sup>	0,08 (0,02) <sup>NS</sup>	1,87 (1,11) <sup>NS</sup>	5,13 (1,52)*	2,09 (0,62) <sup>NS</sup>	6,53 (1,94)*

<sup>1</sup>MESO= mesófilos, TERMO= termófilos, PSICRO= psicrófilos, PSEUDO= *Pseudomonas spp.*, ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= estafilococos coagulasa positivos, SCN= estafilococos coagulasa negativos, RCST= recuento de células somáticas de leche de tanque; <sup>2</sup>PMOA= producción media por oveja y año; \*\*\***p<0,001**, \*\***p<0,01**, \***p<0,05**, <sup>NS</sup>**p>0,05**.

Tabla 19. Media de mínimos cuadrados de los recuentos microbianos y del recuento de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega según la estación, pertenece (o no) a AGRAMA, la producción media por oveja y año, y los factores relacionados con la alimentación y las condiciones higiénicas del alojamiento de las ovejas de ordeño.

CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS <sup>1</sup>												
	MESO	TERMO	PSICRO	PSEUDO	ECOLI	COLI	BAL	CGPCN	BAB	SCP	SCN	RCST
Estación												
Primavera	5,27±0,11 <sup>b</sup>	3,08±0,13 <sup>ab</sup>	4,66±0,19 <sup>b</sup>	2,83±0,11 <sup>b</sup>	1,31±0,17 <sup>c</sup>	2,86±0,17 <sup>ab</sup>	4,72±0,10 <sup>b</sup>	3,71±0,12 <sup>b</sup>	3,51±0,09 <sup>a</sup>	2,80±0,21 <sup>a</sup>	4,18±0,08 <sup>b</sup>	5,97±0,03 <sup>a</sup>
Verano	5,41±0,11 <sup>ab</sup>	2,97±0,12 <sup>b</sup>	4,83±0,17 <sup>b</sup>	3,66±0,11 <sup>a</sup>	2,39±0,16 <sup>a</sup>	3,10±0,17 <sup>a</sup>	5,20±0,10 <sup>a</sup>	4,36±0,11 <sup>a</sup>	3,16±0,08 <sup>b</sup>	2,79±0,20 <sup>a</sup>	4,60±0,08 <sup>a</sup>	5,96±0,03 <sup>a</sup>
Otoño	5,39±0,11 <sup>ab</sup>	3,24±0,12 <sup>a</sup>	4,69±0,19 <sup>b</sup>	3,00±0,11 <sup>b</sup>	1,71±0,16 <sup>b</sup>	2,50±0,17 <sup>ab</sup>	4,71±0,10 <sup>b</sup>	4,21±0,11 <sup>a</sup>	3,30±0,08 <sup>b</sup>	2,27±0,20 <sup>b</sup>	4,24±0,10 <sup>b</sup>	5,92±0,03 <sup>a</sup>
Invierno	5,56±0,11 <sup>a</sup>	3,10±0,12 <sup>ab</sup>	5,20±0,17 <sup>a</sup>	2,53±0,11 <sup>c</sup>	1,52±0,16 <sup>b</sup>	2,27±0,17 <sup>b</sup>	4,64±0,10 <sup>b</sup>	3,81±0,11 <sup>b</sup>	3,33±0,08 <sup>ab</sup>	2,75±0,20 <sup>a</sup>	4,25±0,08 <sup>b</sup>	5,96±0,03 <sup>a</sup>
AGRAMA												
Pertenece	5,32±0,09 <sup>a</sup>	3,18±0,11 <sup>a</sup>	4,66±0,15 <sup>b</sup>	3,07±0,09 <sup>a</sup>	1,62±0,14 <sup>a</sup>	2,70±0,14 <sup>a</sup>	4,76±0,09 <sup>a</sup>	3,94±0,10 <sup>a</sup>	3,32±0,07 <sup>a</sup>	2,39±0,17 <sup>b</sup>	4,22±0,07 <sup>b</sup>	5,86±0,03 <sup>b</sup>
No Pertenece	5,49±0,11 <sup>a</sup>	3,01±0,11 <sup>a</sup>	5,02±0,17 <sup>a</sup>	2,94±0,09 <sup>a</sup>	1,84±0,14 <sup>a</sup>	2,67±0,15 <sup>a</sup>	4,88±0,09 <sup>a</sup>	4,10±0,10 <sup>a</sup>	3,33±0,07 <sup>a</sup>	2,92±0,17 <sup>a</sup>	4,42±0,07 <sup>a</sup>	6,04±0,03 <sup>a</sup>
PMOA <sup>2</sup>												
PMOAB	5,37±0,10 <sup>a</sup>	3,13±0,11 <sup>a</sup>	4,89±0,16 <sup>a</sup>	2,94±0,10 <sup>a</sup>	1,60±0,15 <sup>a</sup>	2,54±0,15 <sup>a</sup>	4,75±0,09 <sup>a</sup>	3,90±0,10 <sup>b</sup>	3,29±0,08 <sup>a</sup>	2,58±0,18 <sup>a</sup>	4,28±0,07 <sup>a</sup>	5,95±0,03 <sup>a</sup>
PMOAA	5,44±0,10 <sup>a</sup>	3,06±0,10 <sup>a</sup>	4,80±0,15 <sup>a</sup>	3,07±0,09 <sup>a</sup>	1,86±0,13 <sup>a</sup>	2,83±0,13 <sup>a</sup>	4,89±0,08 <sup>a</sup>	4,14±0,09 <sup>a</sup>	3,35±0,07 <sup>a</sup>	2,73±0,16 <sup>a</sup>	4,36±0,06 <sup>a</sup>	5,95±0,03 <sup>a</sup>
Lotes de alimentación												
Aplica	5,54±0,10 <sup>a</sup>	3,26±0,12 <sup>a</sup>	4,95±0,17 <sup>a</sup>	3,10±0,10 <sup>a</sup>	1,98±0,15 <sup>a</sup>	2,91±0,16 <sup>a</sup>	4,97±0,10 <sup>a</sup>	4,12±0,11 <sup>a</sup>	3,44±0,08 <sup>a</sup>	2,68±0,19 <sup>a</sup>	4,28±0,07 <sup>a</sup>	5,94±0,03 <sup>a</sup>
No aplica	5,27±0,10 <sup>b</sup>	2,93±0,10 <sup>b</sup>	4,74±0,16 <sup>a</sup>	2,91±0,09 <sup>a</sup>	1,48±0,14 <sup>b</sup>	2,46±0,14 <sup>b</sup>	4,67±0,09 <sup>b</sup>	3,92±0,10 <sup>a</sup>	3,20±0,07 <sup>b</sup>	2,63±0,17 <sup>a</sup>	4,36±0,06 <sup>a</sup>	5,95±0,03 <sup>a</sup>
Tipo de alimentación <sup>3</sup>												
TaUC	5,33±0,14 <sup>a</sup>	2,91±0,16 <sup>a</sup>	4,81±0,24 <sup>a</sup>	2,86±0,15 <sup>b</sup>	1,55±0,22 <sup>ab</sup>	2,69±0,23 <sup>a</sup>	4,73±0,14 <sup>a</sup>	3,90±0,15 <sup>a</sup>	3,16±0,11 <sup>b</sup>	2,62±0,27 <sup>a</sup>	4,26±0,10 <sup>a</sup>	5,90±0,04 <sup>a</sup>
TaUP	5,48±0,14 <sup>a</sup>	3,34±0,16 <sup>a</sup>	4,88±0,23 <sup>a</sup>	3,07±0,14 <sup>ab</sup>	2,21±0,21 <sup>a</sup>	2,73±0,22 <sup>a</sup>	4,95±0,14 <sup>a</sup>	4,22±0,15 <sup>a</sup>	3,58±0,11 <sup>a</sup>	2,61±0,27 <sup>a</sup>	4,35±0,10 <sup>a</sup>	6,03±0,04 <sup>a</sup>
TaMFC	5,41±0,13 <sup>a</sup>	3,04±0,15 <sup>a</sup>	4,84±0,22 <sup>a</sup>	3,09±0,13 <sup>a</sup>	1,44±0,20 <sup>b</sup>	2,64±0,20 <sup>a</sup>	4,78±0,12 <sup>a</sup>	3,94±0,14 <sup>a</sup>	3,23±0,10 <sup>ab</sup>	2,73±0,24 <sup>a</sup>	4,34±0,09 <sup>a</sup>	5,93±0,04 <sup>a</sup>
Subproductos												
Utiliza	5,46±0,09 <sup>a</sup>	3,27±0,10 <sup>a</sup>	4,93±0,15 <sup>a</sup>	3,03±0,09 <sup>a</sup>	1,70±0,13 <sup>a</sup>	2,74±0,14 <sup>a</sup>	4,89±0,08 <sup>a</sup>	4,13±0,10 <sup>a</sup>	3,56±0,07 <sup>a</sup>	2,77±0,17 <sup>a</sup>	4,35±0,06 <sup>a</sup>	5,98±0,03 <sup>a</sup>
No utiliza	5,35±0,10 <sup>a</sup>	2,93±0,10 <sup>b</sup>	4,76±0,16 <sup>a</sup>	2,97±0,09 <sup>a</sup>	1,76±0,14 <sup>a</sup>	2,63±0,14 <sup>a</sup>	4,74±0,09 <sup>a</sup>	3,91±0,10 <sup>b</sup>	3,08±0,07 <sup>b</sup>	2,53±0,17 <sup>a</sup>	4,29±0,07 <sup>a</sup>	5,92±0,03 <sup>b</sup>
Tipo de forraje												
Henficado	5,59±0,08 <sup>a</sup>	3,20±0,10 <sup>a</sup>	5,13±0,13 <sup>a</sup>	3,15±0,09 <sup>a</sup>	1,83±0,13 <sup>a</sup>	2,87±0,13 <sup>a</sup>	4,88±0,08 <sup>a</sup>	4,16±0,10 <sup>a</sup>	3,46±0,07 <sup>a</sup>	2,65±0,16 <sup>a</sup>	4,26±0,06 <sup>a</sup>	6,00±0,03 <sup>a</sup>
Ensilado	5,22±0,18 <sup>a</sup>	2,99±0,20 <sup>a</sup>	4,56±0,31 <sup>a</sup>	2,85±0,18 <sup>a</sup>	1,63±0,27 <sup>a</sup>	2,50±0,28 <sup>a</sup>	4,76±0,17 <sup>a</sup>	3,89±0,19 <sup>a</sup>	3,19±0,14 <sup>a</sup>	2,65±0,33 <sup>a</sup>	4,38±0,13 <sup>a</sup>	5,90±0,05 <sup>a</sup>
Higiene del alojamiento												
Deficiente	5,57±0,08 <sup>a</sup>	3,32±0,09 <sup>a</sup>	4,94±0,14 <sup>a</sup>	3,08±0,08 <sup>a</sup>	1,66±0,12 <sup>a</sup>	2,88±0,13 <sup>a</sup>	4,89±0,08 <sup>a</sup>	4,12±0,09 <sup>a</sup>	3,47±0,07 <sup>a</sup>	2,29±0,15 <sup>b</sup>	4,35±0,06 <sup>a</sup>	5,99±0,03 <sup>a</sup>
Buena	5,24±0,11 <sup>b</sup>	2,87±0,13 <sup>b</sup>	4,75±0,19 <sup>a</sup>	2,93±0,11 <sup>a</sup>	1,80±0,17 <sup>a</sup>	2,49±0,17 <sup>b</sup>	4,75±0,10 <sup>a</sup>	3,91±0,12 <sup>a</sup>	3,18±0,09 <sup>b</sup>	3,01±0,20 <sup>a</sup>	4,28±0,08 <sup>a</sup>	5,91±0,03 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>MEISO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas spp.*, ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= estafilococos coagulasa positivos, SCN= estafilococos coagulasa negativos, RCST= recuento de células somáticas de leche de tanque <sup>2</sup>PMOA= producción media por oveja y año (PMOAB ≤ 133 litros/oveja/año, PMOAA > 133 litros/oveja/año); <sup>3</sup>TaUC= unified comercial, TaUP= unified propio, TaMFC= mezcla de forraje y concentrado (MEISO, TERMO, PSICRO, PSEUDO, ECOLI, COLI, BAL, CGPCN, SCP, SCN=logaritmo urfc/mL, BAB= logaritmo esporas/L, RCST= logaritmo cel/mL); **superíndices distintos a, b, c: p<0,05.**

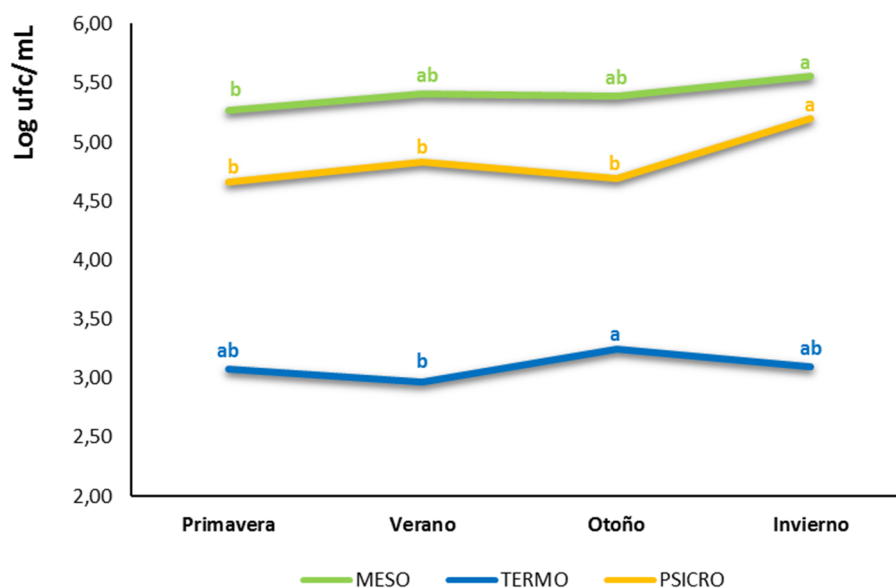


Figura 30. Recuentos de gérmenes mesófilos (MESO), termodúricos (TERMO) y psicrotrofos (PSICRO) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de la estación del año (superíndices distintos a, b:  $p < 0,05$ ).

En cuanto a los grupos diferenciales de microorganismos relacionados con el estado higiénico de la ganadería (**Figura 31**), se observan recuentos elevados en verano, circunstancia que muchos estudios han atribuido al mayor crecimiento microbiano en ambientes higiénicamente deficientes en los meses estivales (Elmoslemany y cols., 2010; Zucali y cols., 2011). Cabe destacar que los altos recuentos de PSEUDO (3,66 log ufc/mL), ECOLI (2,39 log ufc/mL) y COLI (3,10 log ufc/mL) en verano estarían relacionados con deficiencias higiénicas en el manejo y limpieza de sala de ordeño y tanque de refrigeración de la leche, incluso por un mayor riesgo de contaminación procedente del agua o del suelo en esta época del año (De Jonghe y cols., 2011; Ribeiro Júnior y cols., 2018). En lo que respecta al recuento de coliformes, los resultados son distintos a los señalados por De Garnica y cols., (2013c), que obtuvieron los recuentos más elevados en otoño e invierno, y los más bajos en primavera y verano. Elmoslemany y cols. (2010) y Nalepa y cols. (2018) también señalan un incremento en la incidencia de coliformes totales en verano.

Otro grupo de microorganismos de origen ambiental como BAL también muestra recuentos significativamente superiores en verano (5,20 log ufc/mL), en la línea del estudio de Nalepa y cols. (2018). De forma similar se comportan los CGPCN, con niveles superiores en verano y otoño (4,36 y 4,21 log ufc/mL, respectivamente).

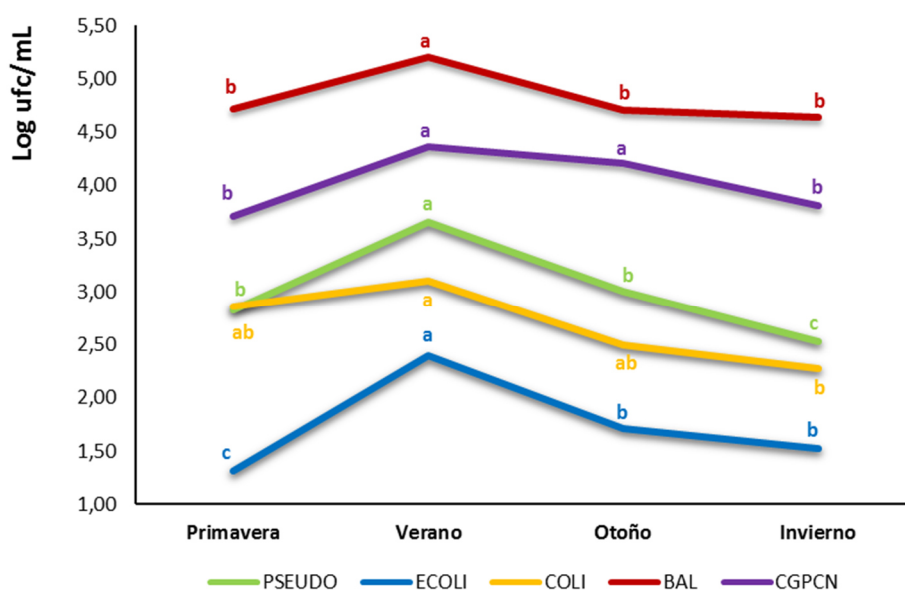


Figura 31. Recuentos de gérmenes de origen ambiental (*Pseudomonas* spp. (PSEUDO), *Escherichia coli* (ECOLI), otros coliformes distintos de *Escherichia coli* (COLI), bacterias ácido lácticas (BAL) y cocos gram-positivos catalasa-negativos (CGPCN) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de la estación del año (superíndices distintos a, b, c:  $p < 0,05$ ).

Respecto a los gérmenes responsables de infecciones intramamarias (Figura 32), se observa un significativo aumento de SCN también en verano (4,60 log ufc/mL), mientras que los niveles de SCP se muestran similares a lo largo del año, con mínimos en otoño, al igual que los RCST. Estudios como el de Tombarkiewicz y cols. (2009), en caprino lechero, señalan que las condiciones de temperatura y humedad durante el verano favorecen el incremento de estafilococos. Otros estudios en ovino lechero, como el de De Garnica y cols. (2011), señalan una mayor prevalencia de SCP en invierno y primavera, al comienzo del periodo de lactación comparado con final de lactación (verano y otoño), en la línea de lo obtenido en el presente estudio. La prevalencia de estos gérmenes está relacionada con el estado de lactación de los animales (Gonzalo y cols., 2002), por lo que la disposición de las lactaciones a lo largo del año y el contenido en el tanque de leche de ovejas de distinto estado de lactación, podría condicionar la estacionalidad del recuento de estos microorganismos.

También se observa un efecto de la estación del año sobre los recuentos de BAB (3,51 log esporas/L), con niveles máximos en primavera (Figura 33). Colombari y cols. (2005) atribuyen las variaciones del recuento de esporas a diferencias en las materias primas utilizadas en la ración de las ovejas de ordeño, sobre todo por el aumento de consumo de ensilados y otros subproductos húmedos. Sin embargo, Arias (2013) no observó diferencias significativas en éstos recuentos entre estaciones en leche de tanque de oveja Manchega. Finalmente, queremos señalar un comportamiento similar del grupo de microorganismos resistentes a la pasteurización (TERMO y BAB) con valores menores en los meses de verano.

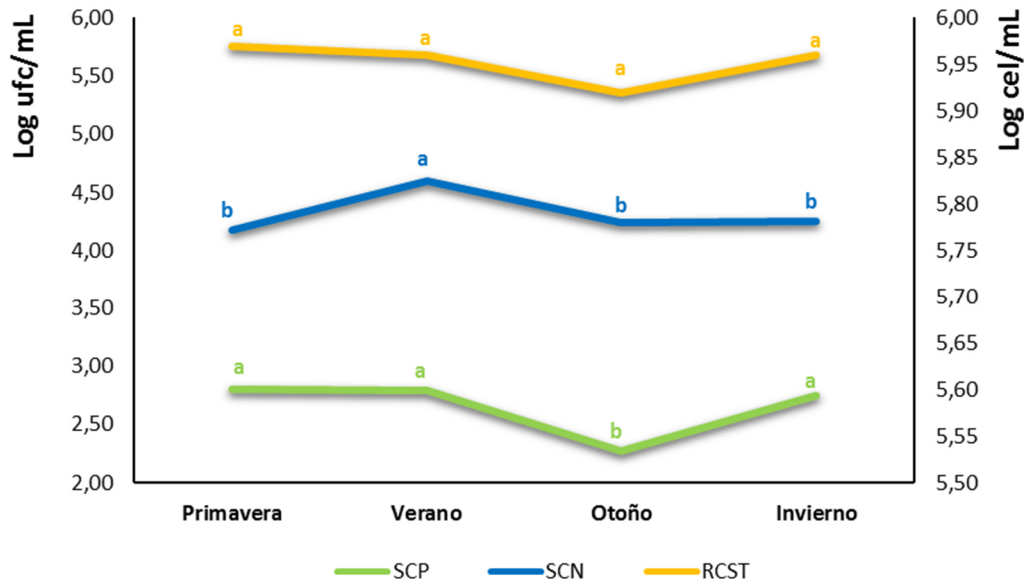


Figura 32. Recuentos de gérmenes relacionados con la sanidad mamaria (estafilococos coagulasa positivos (SCP) y negativos (SCN), y de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de la estación del año (superíndices distintos a, b:  $p < 0,05$ ).

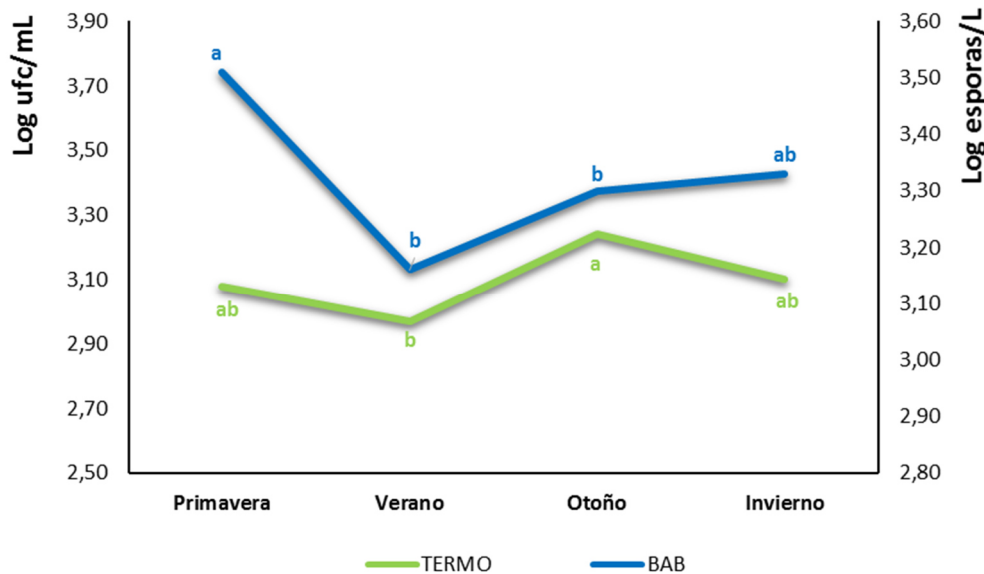


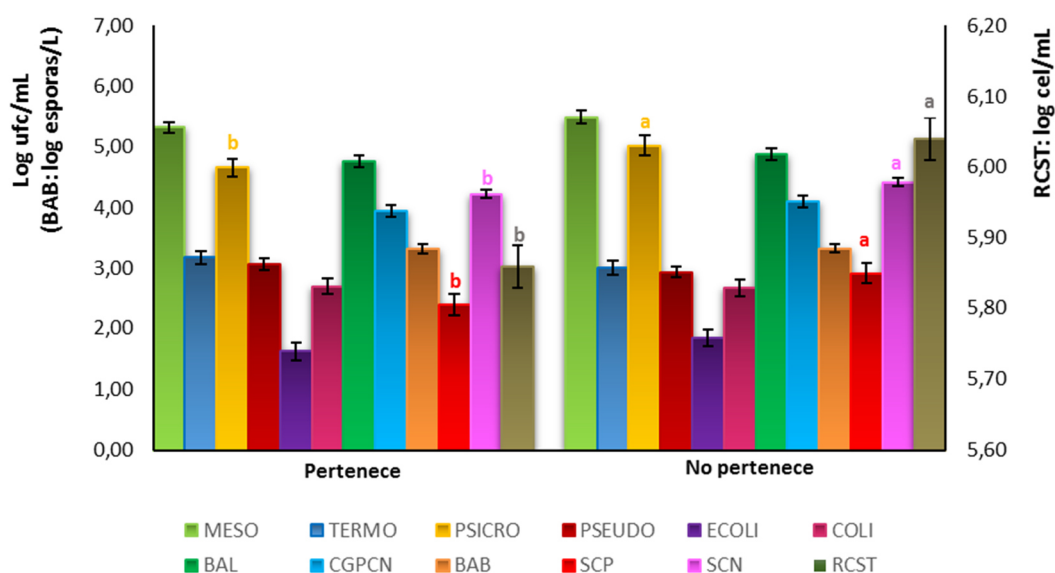
Figura 33. Recuentos de gérmenes termodúricos (TERMO) y esporas butíricas (BAB) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de la estación del año (superíndices distintos a, b:  $p < 0,05$ ).

#### AGRAMA.

La *pertenencia (o no) de la ganadería a la Asociación Nacional de Criadores de Ganado Ovino Selecto de raza Manchega (AGRAMA)* afecta significativamente ( $p < 0,05$ ) al recuento de gérmenes con capacidad de crecimiento a temperaturas de refrigeración (PSICRO) y a los relacionados con la sanidad mamaria (SCP y SCN). Asimismo este factor es el más importante y significativo ( $p < 0,05$ ) en la variación del RCST asociado, con un 10,84% de la varianza explicada.

La leche de tanque de ganaderías asociadas a AGRAMA tienen menores recuentos de células somáticas (RCST) que el resto de ganaderías de oveja Manchega no asociadas (5,86 vs 6,04 log cel/mL). Esta tendencia es similar para los estafilococos, tanto para SCP (2,58 vs 2,73 log ufc/mL) como para SCN (4,28 vs 4,36 log ufc/mL) (**Figura 34**). Estos resultados indicarían que la aplicación de las medidas del programa de control de la calidad de la leche desarrollado en las ganaderías de AGRAMA en los últimos años, en el marco del [Real Decreto 460/2002](#), está teniendo repercusión en la mejora de la sanidad mamaria de sus rebaños. Las medidas empleadas han sido principalmente el chequeo de las condiciones de sanidad del rebaño, diagnóstico bacteriológico de los gérmenes causantes de mastitis en leche de tanque y realización de antibiogramas, tratamiento selectivo de secado, revisión del manejo en el ordeño y revisión de las condiciones de funcionamiento de la sala de ordeño ([García y cols., 2007](#)).

Asimismo, los microorganismos PSICRO presentan unos recuentos significativamente inferiores en la leche de las ganaderías de AGRAMA frente a las que no lo son (4,66 vs 5,02 log ufc/mL) (**Figura 34**), determinando en principio mejores condiciones del manejo higiénico-sanitario de las ganaderías de AGRAMA, siendo similar la tendencia de MESO y otros grupos de gérmenes (BAL, CGPCN). Estos últimos estarían condicionando los recuentos de psicrotrofos, ya que tienen capacidad de crecimiento a temperaturas de refrigeración, habiendo sido citados gérmenes pertenecientes a los géneros *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, etc. ([Frank, 1997](#); [Ribeiro Júnior y cols., 2018](#)).



**Figura 34.** Recuentos de los grupos microbianos (MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas* spp., ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= grupo de los estafilococos coagulasa positivos, SCN= grupo de los estafilococos coagulasa negativos) y de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de su pertenencia (o no) a AGRAMA (superíndices distintos a, b:  $p < 0,05$ ).

### Producción de leche por oveja y año de la ganadería.

El **nivel productivo de las ovejas** es un factor que ha mostrado efecto significativo ( $p<0,05$ ) en la variación de CGPCN, aunque con una varianza explicada baja (1,63%). Así, el recuento de CGPCN resulta significativamente más elevado ( $p<0,05$ ) cuando las producciones son superiores a los 133 litros/oveja/año, que para producciones iguales o inferiores: 4,14 vs 3,90 log ufc/mL (**Figura 35**). El grupo CGPCN ha sido identificado como un buen indicador de la calidad de la leche, en relación con las condiciones higiénicas y de manejo, así como del estado de sanidad mamario del rebaño (Jayarao y cols., 2001). Wathes (1994) relaciona el aumento de CGPCN de las ganaderías con más cantidad de leche por animal por ser las de manejo más intensivo, con mayor número de animales, donde es más complicado mantener unas correctas condiciones higiénicas. La misma tendencia experimentan la mayoría de grupos microbianos estudiados, con valores superiores en ganaderías con producciones por oveja y año superiores a 133 litros (MESO, PSEUDO, coliformes y estafilococos), aunque la diferencia no llega a ser significativa ( $p>0,05$ ) (**Figura 35**).

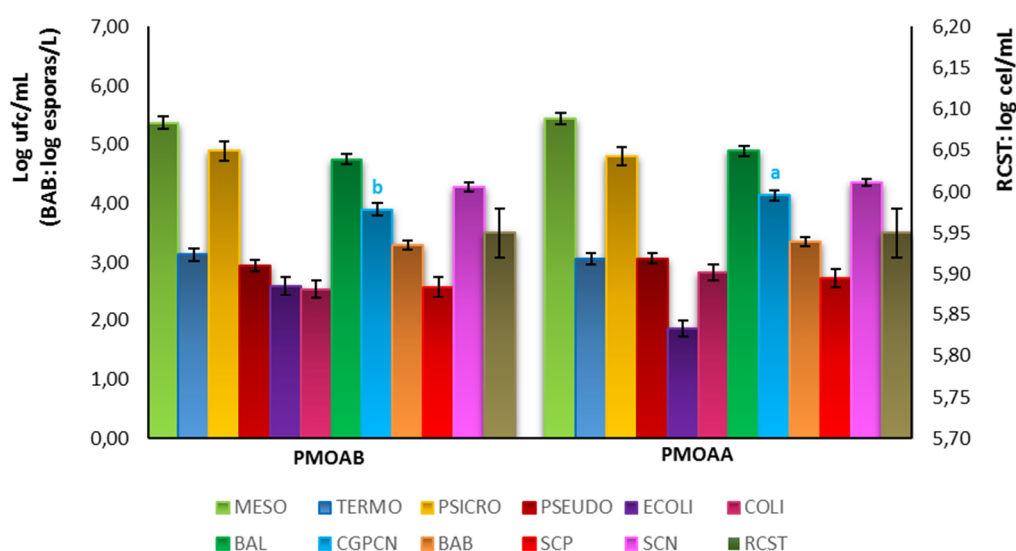


Figura 35. Recuentos de los grupos microbianos (MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas* spp., ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= grupo de los estafilococos coagulasa positivos, SCN= grupo de los estafilococos coagulasa negativos) y de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función del nivel de producción de leche en la ganadería (PMOA: PMOAB<133 litros/oveja/año; PMOAA>133 litros/oveja/año) (superíndices distintos a, b:  $p<0,05$ ).

### Factores relacionados con la alimentación de las ovejas de ordeño.

La alimentación y su manejo son factores que influyen la calidad microbiológica y el recuento de células somáticas de la leche. Varios autores han destacado la importancia de la fabricación, conservación y equilibrio de nutrientes de las raciones ofrecidas a los animales sobre el recuento bacteriano y de células somáticas (Chambers, 2005; Arias y cols., 2013; Gonzalo, 2017).



Aplicación de lotes de alimentación.

El factor *utilización o no de lotes de alimentación en función del nivel de producción de leche de las ovejas de ordeño* presenta un efecto significativo ( $p<0,05$ ) en la variación de MESO y TERMO, así como sobre determinados grupos de gérmenes ambientales: coliformes, BAL y BAB.

Los recuentos de MESO (5,54 vs 5,27 log ufc/mL) y TERMO (3,26 vs 2,93 log ufc/mL) se muestran significativamente superiores en aquellas ganaderías en las que tienen implantado el manejo con lotes de alimentación en base a la producción lechera de las ovejas, respecto a las ganaderías que no utilizan este manejo. Esta tendencia es similar para el resto de grupos microbianos, siendo estas diferencias significativas para coliformes, tanto para ECOLI (1,98 vs 1,48 log ufc/mL) como para COLI (2,91 vs 2,46 log ufc/mL), considerados índices de falta de higiene. Es de destacar también los mayores recuentos de gérmenes de origen ambiental, como BAL (4,97 vs 4,67 log ufc/mL) y BAB (3,44 vs 3,20 log ufc/mL) (**Figura 36**), cuando se realizan lotes en las ganaderías.

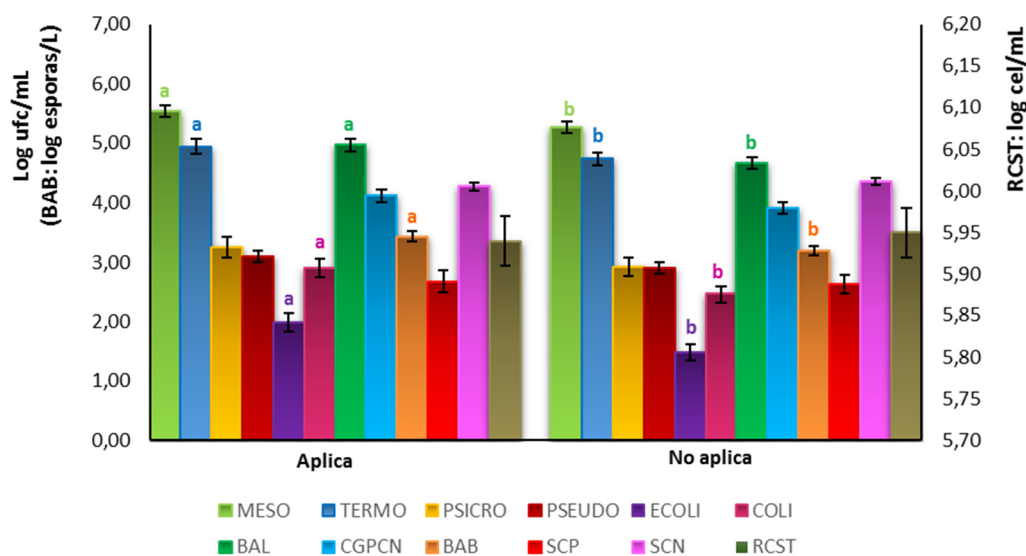


Figura 36. Recuentos de los grupos microbianos (MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas* spp., ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= grupo de los estafilococos coagulasa positivos, SCN= grupo de los estafilococos coagulasa negativos) y de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de la aplicación de lotes de alimentación (superíndices distintos a, b:  $p<0,05$ ).

Las explotaciones que en mayor medida aplican este manejo son aquellas de mayor tamaño, más tecnificadas y con mayor número de animales en lactación (Rivas y cols., 2015), lo que también se observa en los resultados del estudio de las características de las ganaderías recogidos en la **Tabla 10.3**. Esto condicionaría en determinados casos los mayores niveles de los microorganismos de origen ambiental relacionados con las condiciones higiénicas, en particular coliformes, o relacionados con el tipo de alimentación como las esporas butíricas. Sin embargo, el incremento significativo de BAL en las ganaderías en las que se aplican lotes de alimentación evidencia el mayor



número de microorganismos autóctonos y que constituyen la flora en principio deseable de la leche con respecto a ganaderías que no realizan lotes de alimentación.

#### Tipo de alimentación.

El factor *tipo de alimentación suministrada de las ovejas de ordeño* muestra una influencia significativa ( $p < 0,05$ ) para PSEUDO, ECOLI y BAB.

Los recuentos de PSEUDO significativamente inferiores se han observado en ganaderías que adquieren el unifeed comercial (TaUC: 2,86 log ufc/mL), respecto de aquellas que alimentan de forma más tradicional, con mezcla de forraje y concentrado (TaMFC: 3,09 log ufc/mL) o las que elaboran el unifeed en la propia explotación (TaUP: 3,07 log ufc/mL) (**Figura 37**). Dogan y Boor, (2003) señalaron que PSEUDO es un género considerado como ubicuo, que se ha aislado en agua, aire, piel/pelo, alimento y otras localizaciones, testigo de deficientes condiciones higiénicas. Ello sugiere que el manejo de las materias primas en la propia ganadería, ya sea administrando un tipo de alimentación más tradicional o elaborando su propio unifeed, provoca un mayor nivel de contaminación que en el caso de una alimentación suministrada por una industria de alimentación animal.

Asimismo, los mayores recuentos de ECOLI se han obtenido en el caso de unifeed elaborado en la propia explotación, con niveles bastante relevantes (TaUP: 2,21 log ufc/mL) (**Figura 37**), respecto al resto de tipos de alimentación considerados, siendo similar la tendencia para el grupo COLI. En vacuno, Cicconi-Hogan y cols. (2013) obtuvieron mayor recuento de coliformes en leche de tanque de ganaderías que utilizan este tipo de alimentación. Cao y cols. (2011), indican una mayor proliferación de ECOLI en las raciones que contienen ensilados debido a una deficiente fermentación láctica durante el periodo de conservación del ensilado, dependiente asimismo de la temperatura ambiental. Por ello, la determinación de ECOLI podría ser un buen indicador de la calidad higiénica del ensilado utilizado como materia prima en alimentación animal, para evitar la presencia de este patógeno en leche de tanque.

De igual forma, los mayores recuentos de BAB en leche de tanque se encuentran en ganaderías que elaboran el unifeed en su propia explotación (TaUP: 3,58 log esporas/L), y los mínimos en las ganaderías que utilizan unifeed comercial (TaUC: 3,16 log esporas/L) (**Figura 37**). Estos resultados coinciden con los resultados de Arias y col. (2013), también en raza Manchega, para este indicador de calidad tecnológica respecto a hinchazón tardía en los quesos. En cualquier caso, la implementación de buenas prácticas de manejo en la elaboración del unifeed, sobre todo por la utilización de ensilados, es necesaria para minimizar la presencia de esporas de *Clostridium* en leche, tal como concluyen Zucali y cols. (2015).

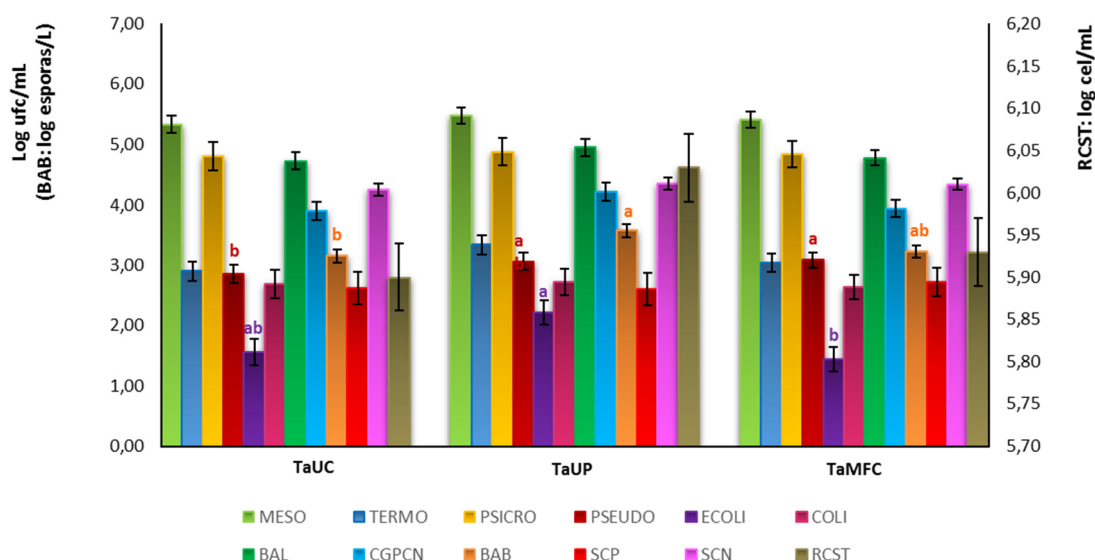


Figura 37. Recuentos de los grupos microbianos (MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas* spp., ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= grupo de los estafilococos coagulasa positivos, SCN= grupo de los estafilococos coagulasa negativos) y de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función del tipo de alimentación de las ovejas de ordeño (TaUC: unifeed comercial; TaUP: unifeed propio; TaMFC: mezcla de forraje y concentrado) (superíndices distintos a, b:  $p < 0,05$ ).

#### Utilización de subproductos húmedos.

El factor **utilización de subproductos en la ración de las ovejas de ordeño**, que generalmente son bagazo de cerveza u otros subproductos húmedos, presenta una influencia significativa sobre los gérmenes TERMO, CGPCN, BAB y el RCST.

Los recuentos de microorganismos resistentes a la pasteurización (TERMO) son superiores en la leche de tanque de ganaderías que utilizan subproductos en las raciones que en aquellas que no los incluyen (3,27 vs 2,93 log ufc/mL), al igual que para las esporas butíricas (3,56 vs 3,08 log esporas/L) (Figura 38). Es de destacar que estos últimos resultados coinciden con el estudio de Arias y cols. (2013), quienes evidenciaron que aquellas ganaderías que incluían bagazo de cerveza tenían un significativo aumento del riesgo de recuentos de BAB en leche de tanque superiores a 1.000 esporas/L, considerada por varios autores (Colombari y cols., 2005) como una leche de mala calidad respecto a estos microorganismos por su relación con la hinchazón tardía en los quesos de pasta prensada.

También se han observado recuentos significativamente superiores de CGPCN en leche de ganaderías que utilizan subproductos (3,56 vs 3,08 log ufc/mL) (Figura 38), determinando la posible relación de este grupo de gérmenes con deficientes condiciones higiénicas y ambientales, relacionados con *Enterococcus*, gérmenes oportunistas que pueden ser patógenos para el hombre y

con *Streptococcus*, algunos de cuyos integrantes, como el *Streptococcus agalactiae* puede provocar infecciones intramamarias (Franz y cols., 2003).

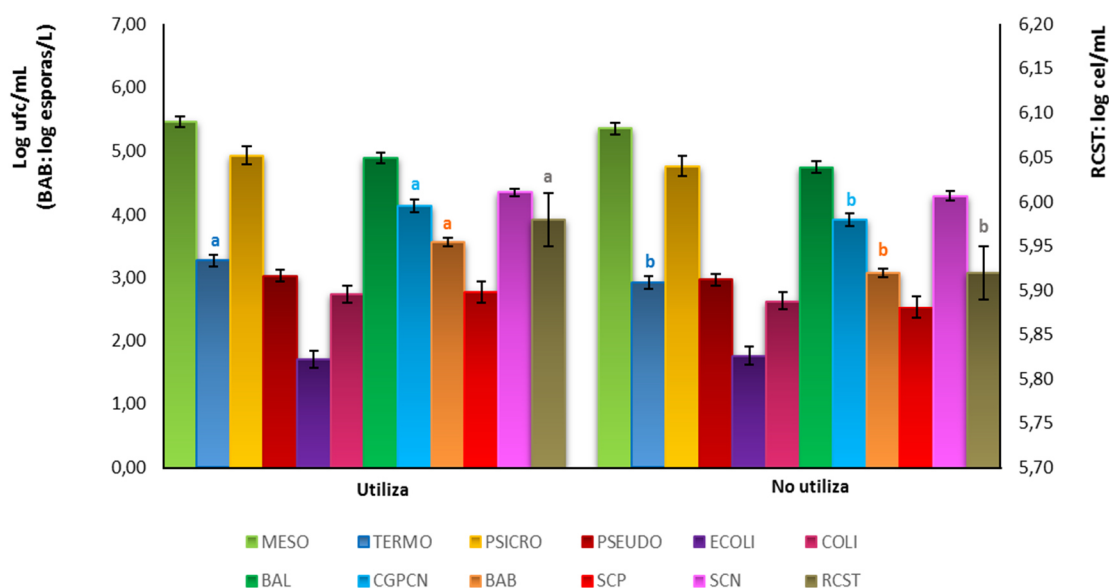


Figura 38. Recuentos de los grupos microbianos (MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas* spp., ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= grupo de los estafilococos coagulasa positivos, SCN= grupo de los estafilococos coagulasa negativos) y de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de la utilización de subproductos (superíndices distintos a, b:  $p < 0,05$ ).

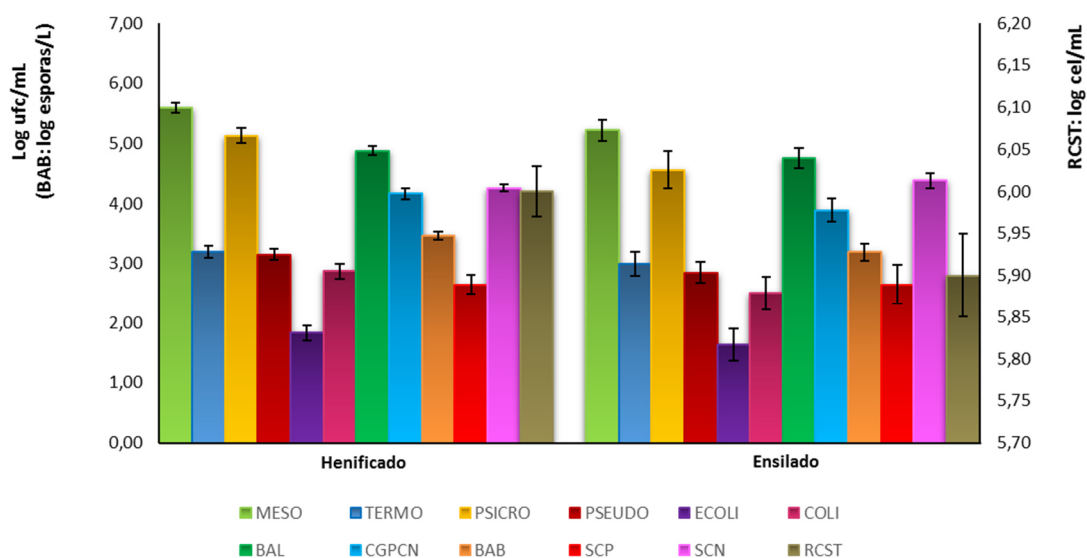
Por otra parte, el recuento de células somáticas también aumenta significativamente en las ganaderías en las que habitualmente se utilizan estos subproductos (5,98 vs 5,92 log cel/mL) (Figura 38), siguiendo la misma tendencia los recuentos de *Staphylococcus*, tanto SCP como SCN. Existen escasos estudios que traten sobre este tema, como el de Firkins y cols. (2002), que no encontró relación entre el RCST y la inclusión de subproductos en la dieta de vacas lecheras, aunque las diferencias entre especies, tipo de subproductos, etc., condicionan mucho estas comparaciones. Hay que tener en cuenta los altos contenidos de urea en leche cuando se adicionan subproductos, estudiados en el capítulo anterior, con niveles muy superiores a los citados en vacuno lechero, y que podrían ejercer su efecto tóxico facilitando la instauración de mamitis.

#### Tipo de forraje.

El factor tipo de **forraje utilizado en la alimentación de las ovejas de ordeño**, henificado o ensilado, no muestra una influencia significativa en la variación de los distintos grupos microbianos en la leche de tanque de las ganaderías utilizadas en este estudio.

Por lo general, el recuento de microorganismos en leche de ganaderías que utilizan forraje henificado es superior a las que utilizan ensilado, excepto en el caso de los SCN, aunque las diferencias no llegan

a ser significativas ( $p>0,05$ ) (**Figura 39**). Varios autores han señalado sin embargo que la utilización de forraje tipo ensilado constituye la principal fuente de contaminación de esporas en la alimentación de vacuno lechero (Visser y cols., 2007a, b), aunque la calidad de la materia prima a partir de la cual se elaboran los forrajes, tanto henificados como ensilados, tiene una gran importancia y puede afectar a la presencia de determinados microorganismos.



**Figura 39.** Recuentos de los grupos microbianos (MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas* spp., ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= grupo de los estafilococos coagulasa positivos, SCN= grupo de los estafilococos coagulasa negativos) y de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función del tipo de forraje (superíndices distintos a, b:  $p<0,05$ ).

#### Higiene del alojamiento de las ovejas de ordeño.

El **estado higiénico de los alojamientos** es un factor determinante que afecta significativamente ( $p<0,05$ ) a los recuentos tanto de grupos de gérmenes generales (MESO y TERMO) como diferenciales (COLI, BAB y SCP), así como para el RCST. Así, para los grupos de microorganismos generales se observan recuentos significativamente superiores ( $p<0,05$ ) en ganaderías de higiene deficiente respecto a las calificadas como higiene buena para MESO (5,57 vs 5,24 log ufc/mL) y TERMO (3,32 vs 2,87 log ufc/mL) (**Figura 40**).

Para los grupos diferenciales, la tendencia es similar para COLI, considerado como indicador de la condición higiénica de las ganaderías (2,88 vs 2,49 log ufc/mL), y para BAB (3,47 vs 3,18 log esporas/L) (**Figura 40**). Una higiene deficiente en el alojamiento implica suciedad en camas, pesebres, bebederos, etc., además de presencia de polvo en suspensión en el alojamiento, que constituyen focos importantes de contaminación de diversos microorganismos, como refieren diversos estudios tanto para coliformes (Sevi y cols., 1999b) como para gérmenes esporulados (Aureli y Franciosa,

2002; Magnusson y cols., 2007). En esta línea, Arias (2013) indica recuentos superiores y una mayor probabilidad de contaminación de la leche de oveja con esporas butíricas cuando la higiene del alojamiento es inadecuada, similar a lo observado en estudios realizados en vacuno lechero Vissers y cols. (2007b).

Asimismo, el RCST también presenta recuentos ligeramente superiores en ganaderías con higiene deficiente (5,99 vs 5,91, log cel/mL) (Figura 40), con la misma tendencia que el recuento de estafilococos coagulasa negativos (SCN), aunque en este caso sin diferencia estadística significativa: 4,35 vs 4,28 log ufc/mL. Sin embargo, y a diferencia de los anteriores, el recuento de estafilococos coagulasa positivos (SCP) presenta recuentos significativamente superiores ( $p < 0,05$ ) en las ganaderías calificadas con higiene del alojamiento buena, frente las calificadas con higiene deficiente (3,01 vs 2,29 log ufc/mL) (Figura 40). Verdier-Metz y cols. (2009) demostraron que *Staphylococcus aureus* era aislado incluso en granjas que mantenían controles exhaustivos de la calidad higiénica de la máquina de ordeño y del ambiente que rodea a los animales, así como una buena sanidad mamaria de los animales. En vacuno, Lundberg y cols. (2016) indicaron que algunos de los patógenos mamarios son capaces de provocar sucesivos episodios de mastitis durante periodos de tiempo prolongados en las ganaderías, a pesar de que éstas tengan implementadas medidas preventivas de control.

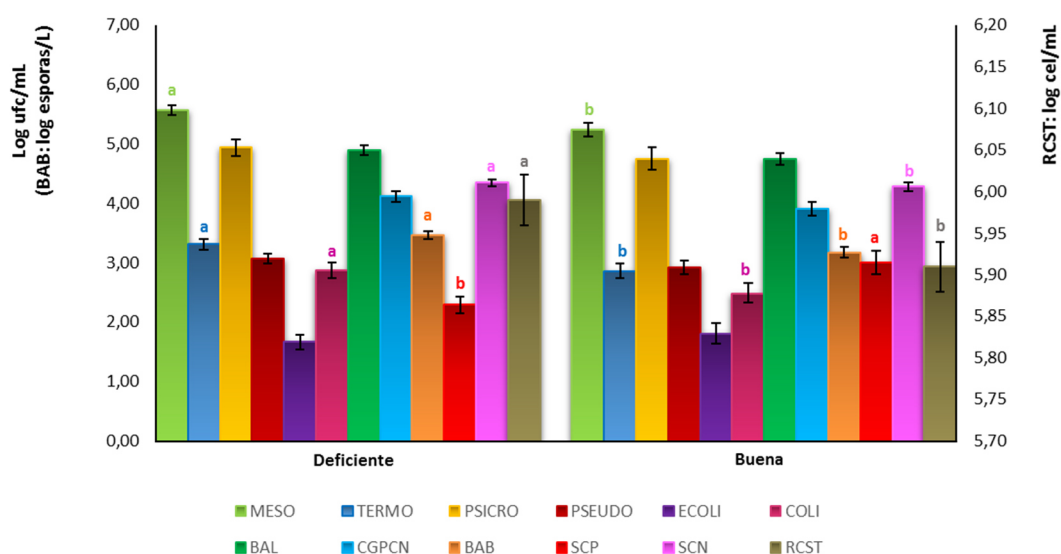


Figura 40. Recuentos de los grupos microbianos (MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas* spp., ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= grupo de los estafilococos coagulasa positivos, SCN= grupo de los estafilococos coagulasa negativos) y de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de la higiene de los alojamientos de las ovejas de ordeño (superíndices distintos a, b:  $p < 0,05$ ).

RESUMEN DEL EFECTO DE LA ESTACIÓN DEL AÑO Y DE LAS CARACTERÍSTICAS DE LAS GANADERÍAS SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DIFERENCIALES Y AL RECuento DE CÉLULAS SOMÁTICAS DE LA LECHE DE TANQUE DE LAS GANADERÍAS DE RAZA OVINA MANCHEGA.

SUMMARY OF THE EFFECT OF SEASON AND THE CHARACTERISTICS OF THE FARMS ON THE DIFFERENTIAL MICROBIAL COUNT AND SOMATIC CELL COUNT OF BULK TANK MILK OF MANCHEGA SHEEP FARMS.

PARÁMETROS <sup>1</sup>	MESO	TERMO	PSICRO	PSEUDO	ECOLI	COLI	BAL	CGPCN	BAB	SCP	SCN	RCST
ESTACIÓN												
Primavera					↓				↓			
Verano				↓	↓	↓	↓	↓			↓	
Otoño								↓		↓		
Invierno			↓	↓								
AGRAMA												
Pertenece			↓							↓	↓	↓
No Pertenece			↓							↓	↓	↓
PMOA												
PMOAB								↓				
PMOAA								↓				
ALIMENTACIÓN												
1) Aplicación de lotes												
Si	↓	↓			↓	↓	↓		↓			
No	↓	↓			↓	↓	↓		↓			
2) Tipo de alimentación												
Unifeed comercial				↓					↓			
Unifeed propio					↓							
Mezcla forraje+concentrado												
3) Uso de subproductos												
Si		↓							↓	↓		↓
No		↓						↓	↓			↓
HIGIENE DE LA GANADERIA												
Higiene de alojamientos												
Deficiente	↓	↓				↓			↓	↓		↓
Buena	↓	↓				↓			↓	↓		↓

<sup>1</sup>MESO= mesófilos, TERMO= termofílicos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas spp.*, ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= estafilococos coagulasa positivos, SCN= estafilococos coagulasa negativos, RCST= recuento de células somáticas de leche de tanque <sup>2</sup>PMOA= producción media por oveja y año (PMOAB ≤ 133 litros/oveja/año, PMOAA > 133 litros/oveja/año), <sup>3</sup>TaUC= unifeed comercial, TaUP= unifeed propio, TamFc= mezcla de forraje y concentrado.

### 8.3.2. FACTORES RELACIONADOS CON LA SALA DE ORDEÑO Y LA LECHERÍA.

El **modelo estadístico III** ha sido utilizado para determinar la influencia sobre los recuentos microbianos y celulares de la leche de tanque de las ganaderías estudiadas (**Tabla 20**) de distintos factores relacionados con la sala de ordeño: tipo de línea de sala de ordeño, número de puestos de ordeño, realización de corte de vacío previo a la retirada de pezoneras, tipo de tanque de refrigeración de la leche, condición higiénica y uso de protocolo específico de limpieza de la sala de ordeño y lechería, y periodicidad de revisión de la maquinaria de sala de ordeño y tanque de refrigeración de la leche. Los recuentos medios y la significación estadística de los distintos grupos de microorganismos respecto a los factores estudiados se muestran en la **Tabla 21**.

#### Tipo de línea de la sala de ordeño.

El factor **tipo de línea de la sala de ordeño** presenta una influencia significativa ( $p < 0,05$ ) sobre los recuentos de CGPCN y BAB.

Los recuentos han sido significativamente mayores para estos microorganismos de importancia ambiental, en líneas altas respecto a líneas bajas, tanto para CGPCN (4,27 vs 4,03 log ufc/mL) como para BAB (3,48 vs 3,30 log esporas/L) (**Figura 41**). Esta tendencia es similar para la mayoría de grupos microbianos estudiados y podría ser debida a un mayor riesgo de fluctuaciones de vacío en la sala de ordeño de línea alta, respecto a línea baja, como señalan [Constable y cols. \(2017\)](#) y [Romero y cols. \(2017\)](#) en vacuno y caprino lechero, respectivamente, lo que ocasionaría un incremento de éstos recuentos microbianos.

En ovino lechero existen escasas referencias sobre el efecto del tipo de línea sobre la calidad de la leche. [Díaz y cols. \(2004\)](#) indican que no existen diferencias en los niveles de células somáticas entre línea alta y línea baja, al igual que ocurre en el presente estudio. Por el contrario [Garces y cols. \(2006\)](#), en vacas lecheras obtuvieron un incremento en el recuento de células somáticas en ganaderías con un tipo de línea alta.

[Constable y cols. \(2017\)](#) consideran que el diseño de la sala de ordeño es muy importante para asegurar un ordeño adecuado, destacando la importancia del cálculo correcto de la pendiente desde el punto más alto hasta el recipiente colector en líneas altas, ante el riesgo de deficiencias en el flujo continuo de la leche, que podría acumularse en determinadas zonas.

Por todo ello, sería conveniente establecer un protocolo de limpieza de la sala de ordeño (presión del agua, etc.) en función del tipo de sala para evitar el riesgo de contaminación microbiana que podría condicionar considerablemente la calidad de la leche.

Tabla 20. Valores de F (% de la varianza explicada) y nivel de significación de los factores de variación relacionados con la estación y el conjunto de variables representativas del ordeño higiénico, estudiadas para los recuentos microbianos y el recuento de células somáticas de leche de tanque de las ganaderías de raza ovína Manchega.

PARÁMETROS <sup>1</sup>		FACTORES DE VARIACIÓN						
	Estación	Línea de sala	Número de puestos	Corte de vacío	Tipo de tanque	Higiene total	Protocolo de limpieza	Revisión de maquinaria
MESO	2,32 (2,97) <sup>NS</sup>	2,09 (0,89) <sup>NS</sup>	1,46 (1,24) <sup>NS</sup>	0,16 (0,07) <sup>NS</sup>	0,77 (0,33) <sup>NS</sup>	0,01 (0,99) <sup>NS</sup>	12,03 (5,12)***	6,39 (2,72)*
TERMO	0,94 (1,32) <sup>NS</sup>	0,21 (0,10) <sup>NS</sup>	0,60 (0,56) <sup>NS</sup>	0,51 (0,24) <sup>NS</sup>	1,05 (0,49) <sup>NS</sup>	4,43 (2,07)*	3,53 (1,65) <sup>NS</sup>	0,02 (0,01) <sup>NS</sup>
PSICRO	3,02 (4,60)*	0,11 (0,05) <sup>NS</sup>	1,27 (1,29) <sup>NS</sup>	5,26 (2,66)*	0,34 (0,17) <sup>NS</sup>	0,54 (0,27) <sup>NS</sup>	4,42 (2,24)*	1,87 (0,95) <sup>NS</sup>
PSEUDO	17,09 (19,60)***	3,51 (1,34) <sup>NS</sup>	0,48 (0,37) <sup>NS</sup>	0,52 (0,20) <sup>NS</sup>	0,51 (0,20) <sup>NS</sup>	2,57 (0,98) <sup>NS</sup>	3,08 (1,18) <sup>NS</sup>	0,23 (0,09) <sup>NS</sup>
ECOLI	9,85 (12,65)***	0,04 (0,02) <sup>NS</sup>	2,93 (2,51) <sup>NS</sup>	0,19 (0,08) <sup>NS</sup>	6,11 (2,61)*	0,94 (0,40) <sup>NS</sup>	1,20 (0,51) <sup>NS</sup>	0,60 (0,26) <sup>NS</sup>
COLI	5,05 (6,69)**	0,86 (0,01) <sup>NS</sup>	0,80 (0,70) <sup>NS</sup>	0,16 (0,07) <sup>NS</sup>	0,09 (0,04) <sup>NS</sup>	2,28 (1,01) <sup>NS</sup>	3,93 (1,74)*	0,06 (0,03) <sup>NS</sup>
BAL	10,52 (12,28)***	1,65 (0,64) <sup>NS</sup>	2,32 (1,80) <sup>NS</sup>	2,27 (0,88) <sup>NS</sup>	0,43 (0,17) <sup>NS</sup>	0,01 (0,01) <sup>NS</sup>	9,05 (3,52)**	9,94 (3,87)**
CGPCN	8,98 (10,50)***	5,33 (2,08)*	4,96 (3,87)**	4,52 (1,76)*	2,94 (1,14) <sup>NS</sup>	0,19 (0,07) <sup>NS</sup>	4,15 (1,62)*	8,80 (3,93)**
BAB	4,30 (5,26)**	4,34 (1,77)*	1,21 (0,99) <sup>NS</sup>	1,99 (0,81) <sup>NS</sup>	0,20 (0,08) <sup>NS</sup>	5,06 (2,06)*	0,08 (0,03) <sup>NS</sup>	10,23 (4,17)**
SCP	1,44 (2,07) <sup>NS</sup>	0,12 (0,06) <sup>NS</sup>	0,19 (0,18) <sup>NS</sup>	3,15 (1,50) <sup>NS</sup>	0,63 (0,30) <sup>NS</sup>	2,78 (1,33) <sup>NS</sup>	0,13 (0,06) <sup>NS</sup>	5,31 (2,54)*
SCN	6,96 (8,95)***	1,67 (0,72) <sup>NS</sup>	2,75 (2,35) <sup>NS</sup>	2,00 (0,86) <sup>NS</sup>	4,38 (1,88)*	1,88 (0,81) <sup>NS</sup>	0,01 (0,01) <sup>NS</sup>	2,84 (1,22) <sup>NS</sup>
RCST	0,83 (0,40) <sup>NS</sup>	2,51 (1,14) <sup>NS</sup>	0,95 (0,86) <sup>NS</sup>	10,36 (4,70)**	2,41 (1,09) <sup>NS</sup>	10,77 (4,88)***	2,32 (1,05) <sup>NS</sup>	0,42 (0,19) <sup>NS</sup>

<sup>1</sup>MEZO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas spp.*, ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB= esporas butiricas, SCP= estafilococos coagulasa positivos, SCN= estafilococos coagulasa negativos, RCST= recuento de células somáticas de leche de tanque, \*\*\**p*<0,001, \*\**p*<0,01, \**p*<0,05, <sup>NS</sup>*p*>0,05.



**Tabla 21. Media de mínimos cuadrados de los recuentos microbianos y del recuento de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega según la estación y el conjunto de variables representativas del ordeño higiénico.**

CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS¹												
	MESO	TERMO	PSICRO	PSEUDO	ECOLI	COLI	BAL	CGPCN	BAB	SCP	SCN	RCST
Estación												
Primavera	5,55±0,12 <sup>b</sup>	3,21±0,15 <sup>a</sup>	5,28±0,20 <sup>b</sup>	2,95±0,13 <sup>ab</sup>	1,44±0,18 <sup>c</sup>	3,10±0,19 <sup>a</sup>	4,81±0,11 <sup>b</sup>	3,87±0,12 <sup>b</sup>	3,60±0,10 <sup>a</sup>	2,88±0,24 <sup>a</sup>	4,18±0,09 <sup>b</sup>	6,05±0,04 <sup>a</sup>
Verano	5,67±0,12 <sup>ab</sup>	3,07±0,15 <sup>a</sup>	5,28±0,19 <sup>b</sup>	3,70±0,13 <sup>a</sup>	2,52±0,18 <sup>a</sup>	3,28±0,19 <sup>a</sup>	5,34±0,11 <sup>a</sup>	4,49±0,12 <sup>a</sup>	3,19±0,10 <sup>b</sup>	2,73±0,24 <sup>a</sup>	4,62±0,09 <sup>a</sup>	6,02±0,04 <sup>a</sup>
Otoño	5,74±0,12 <sup>ab</sup>	3,34±0,15 <sup>a</sup>	5,32±0,20 <sup>b</sup>	3,07±0,13 <sup>ab</sup>	1,91±0,18 <sup>b</sup>	2,63±0,19 <sup>b</sup>	4,83±0,11 <sup>b</sup>	4,28±0,12 <sup>a</sup>	3,41±0,10 <sup>ab</sup>	2,36±0,24 <sup>a</sup>	4,33±0,09 <sup>b</sup>	6,01±0,04 <sup>a</sup>
Invierno	5,89±0,12 <sup>a</sup>	3,18±0,15 <sup>a</sup>	5,78±0,19 <sup>a</sup>	2,73±0,13 <sup>c</sup>	1,75±0,18 <sup>ab</sup>	2,60±0,19 <sup>b</sup>	4,73±0,11 <sup>b</sup>	3,95±0,12 <sup>b</sup>	3,38±0,10 <sup>ab</sup>	2,79±0,24 <sup>a</sup>	4,34±0,09 <sup>b</sup>	6,03±0,04 <sup>a</sup>
Línea de sala												
Alta	5,64±0,10 <sup>a</sup>	3,23±0,13 <sup>a</sup>	5,44±0,17 <sup>a</sup>	3,21±0,11 <sup>a</sup>	1,92±0,16 <sup>a</sup>	2,90±0,17 <sup>a</sup>	4,99±0,10 <sup>a</sup>	4,27±0,11 <sup>a</sup>	3,48±0,09 <sup>a</sup>	2,73±0,21 <sup>a</sup>	4,42±0,08 <sup>a</sup>	6,05±0,03 <sup>a</sup>
Baja	5,78±0,10 <sup>a</sup>	3,17±0,12 <sup>a</sup>	5,39±0,16 <sup>a</sup>	3,01±0,11 <sup>a</sup>	1,89±0,15 <sup>a</sup>	2,90±0,16 <sup>a</sup>	4,87±0,09 <sup>a</sup>	4,03±0,10 <sup>b</sup>	3,30±0,08 <sup>b</sup>	2,66±0,20 <sup>a</sup>	4,32±0,07 <sup>a</sup>	6,00±0,03 <sup>a</sup>
N° puestos												
< 20	5,66±0,14 <sup>a</sup>	3,15±0,17 <sup>a</sup>	5,55±0,22 <sup>a</sup>	3,08±0,15 <sup>a</sup>	2,04±0,21 <sup>a</sup>	2,84±0,22 <sup>a</sup>	4,76±0,13 <sup>b</sup>	3,95±0,14 <sup>b</sup>	3,28±0,12 <sup>a</sup>	2,59±0,28 <sup>a</sup>	4,22±0,10 <sup>b</sup>	6,06±0,04 <sup>a</sup>
Entre 20-36	5,82±0,11 <sup>a</sup>	3,29±0,13 <sup>a</sup>	5,48±0,17 <sup>a</sup>	3,18±0,12 <sup>a</sup>	2,05±0,16 <sup>a</sup>	3,04±0,17 <sup>a</sup>	5,00±0,10 <sup>ab</sup>	4,35±0,11 <sup>a</sup>	3,42±0,09 <sup>a</sup>	2,72±0,22 <sup>a</sup>	4,42±0,08 <sup>a</sup>	6,01±0,03 <sup>a</sup>
> 36	5,65±0,10 <sup>a</sup>	3,16±0,13 <sup>a</sup>	5,22±0,17 <sup>a</sup>	3,07±0,11 <sup>a</sup>	1,63±0,15 <sup>b</sup>	2,84±0,16 <sup>a</sup>	5,03±0,10 <sup>a</sup>	4,15±0,10 <sup>ab</sup>	3,48±0,09 <sup>a</sup>	2,77±0,20 <sup>a</sup>	4,46±0,07 <sup>a</sup>	6,01±0,03 <sup>a</sup>
Corte de vacío												
Si	5,69±0,08 <sup>a</sup>	3,26±0,10 <sup>b</sup>	5,19±0,13 <sup>b</sup>	3,16±0,10 <sup>a</sup>	1,95±0,13 <sup>a</sup>	2,94±0,13 <sup>a</sup>	5,01±0,08 <sup>a</sup>	4,28±0,08 <sup>a</sup>	3,32±0,07 <sup>a</sup>	2,47±0,17 <sup>a</sup>	4,30±0,06 <sup>a</sup>	5,97±0,03 <sup>b</sup>
No	5,74±0,13 <sup>a</sup>	3,15±0,16 <sup>a</sup>	5,64±0,21 <sup>a</sup>	3,06±0,14 <sup>a</sup>	1,87±0,19 <sup>a</sup>	2,86±0,20 <sup>a</sup>	4,84±0,12 <sup>a</sup>	4,01±0,13 <sup>b</sup>	3,47±0,11 <sup>a</sup>	2,91±0,25 <sup>a</sup>	4,43±0,09 <sup>a</sup>	6,09±0,04 <sup>a</sup>
Tipo de Tanque												
Abierto	5,65±0,07 <sup>a</sup>	3,11±0,09 <sup>a</sup>	5,34±0,12 <sup>a</sup>	3,17±0,08 <sup>a</sup>	1,64±0,11 <sup>b</sup>	2,94±0,12 <sup>a</sup>	4,89±0,07 <sup>a</sup>	4,02±0,08 <sup>a</sup>	3,42±0,06 <sup>a</sup>	2,58±0,15 <sup>a</sup>	4,26±0,06 <sup>b</sup>	5,99±0,02 <sup>a</sup>
Cerrado	5,77±0,14 <sup>a</sup>	3,29±0,18 <sup>a</sup>	5,48±0,24 <sup>a</sup>	3,05±0,15 <sup>a</sup>	2,18±0,22 <sup>a</sup>	2,87±0,23 <sup>a</sup>	4,97±0,13 <sup>a</sup>	4,27±0,14 <sup>a</sup>	3,37±0,12 <sup>a</sup>	2,81±0,28 <sup>a</sup>	4,48±0,10 <sup>a</sup>	6,06±0,04 <sup>a</sup>
Higiene total												
Deficiente	5,71±0,10 <sup>a</sup>	3,36±0,12 <sup>a</sup>	5,49±0,16 <sup>a</sup>	3,22±0,11 <sup>a</sup>	1,81±0,15 <sup>a</sup>	3,06±0,16 <sup>a</sup>	4,92±0,09 <sup>a</sup>	4,12±0,10 <sup>a</sup>	3,52±0,08 <sup>a</sup>	2,48±0,20 <sup>a</sup>	4,43±0,07 <sup>a</sup>	6,09±0,03 <sup>a</sup>
Buena	5,71±0,12 <sup>a</sup>	3,04±0,14 <sup>b</sup>	5,34±0,19 <sup>a</sup>	3,00±0,13 <sup>a</sup>	2,00±0,18 <sup>a</sup>	2,75±0,19 <sup>a</sup>	4,94±0,11 <sup>a</sup>	4,17±0,12 <sup>a</sup>	3,27±0,10 <sup>b</sup>	2,90±0,23 <sup>a</sup>	4,30±0,09 <sup>a</sup>	5,96±0,04 <sup>b</sup>
Protocolo de limpieza												
Si	5,50±0,08 <sup>b</sup>	3,06±0,10 <sup>a</sup>	5,22±0,14 <sup>b</sup>	2,99±0,08 <sup>a</sup>	1,80±0,12 <sup>a</sup>	2,71±0,13 <sup>b</sup>	4,76±0,07 <sup>b</sup>	4,02±0,09 <sup>b</sup>	3,38±0,07 <sup>a</sup>	2,74±0,16 <sup>a</sup>	4,37±0,06 <sup>a</sup>	6,06±0,02 <sup>a</sup>
No	5,92±0,13 <sup>a</sup>	3,34±0,16 <sup>a</sup>	5,61±0,20 <sup>a</sup>	3,23±0,14 <sup>a</sup>	2,01±0,20 <sup>a</sup>	3,10±0,21 <sup>a</sup>	5,10±0,12 <sup>a</sup>	4,27±0,13 <sup>a</sup>	3,41±0,11 <sup>a</sup>	2,65±0,26 <sup>a</sup>	4,36±0,10 <sup>a</sup>	6,00±0,04 <sup>a</sup>
Revisión de maquinaria												
Annual	5,57±0,10 <sup>b</sup>	3,19±0,12 <sup>a</sup>	5,30±0,16 <sup>a</sup>	3,14±0,11 <sup>a</sup>	1,84±0,15 <sup>a</sup>	2,93±0,16 <sup>a</sup>	4,77±0,09 <sup>b</sup>	3,98±0,10 <sup>b</sup>	3,24±0,08 <sup>b</sup>	2,44±0,19 <sup>b</sup>	4,30±0,07 <sup>a</sup>	6,02±0,03 <sup>a</sup>
Ninguna	5,85±0,11 <sup>a</sup>	3,21±0,14 <sup>a</sup>	5,53±0,18 <sup>a</sup>	3,08±0,12 <sup>a</sup>	1,97±0,18 <sup>a</sup>	2,88±0,18 <sup>a</sup>	5,09±0,10 <sup>a</sup>	4,31±0,11 <sup>a</sup>	3,55±0,09 <sup>a</sup>	2,95±0,22 <sup>a</sup>	4,44±0,08 <sup>a</sup>	6,04±0,03 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>MESO= mesófilos, TERMO= termófilos, PSICRO= psicrófilos, PSEUDO= *Pseudomonas spp.*, ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= estafilococos coagulasa positivos, RCST= recuento de células somáticas de leche de tanque (MESO, TERMO, PSICRO, PSEUDO, ECOLI, COLI, BAL, CGPCN, SCP, SCN=logaritmo ufc/mL, BAB=logaritmo esporas/L, RCST=logaritmo cel/mL); **superíndices distintos a, b, c: p<0,05.**

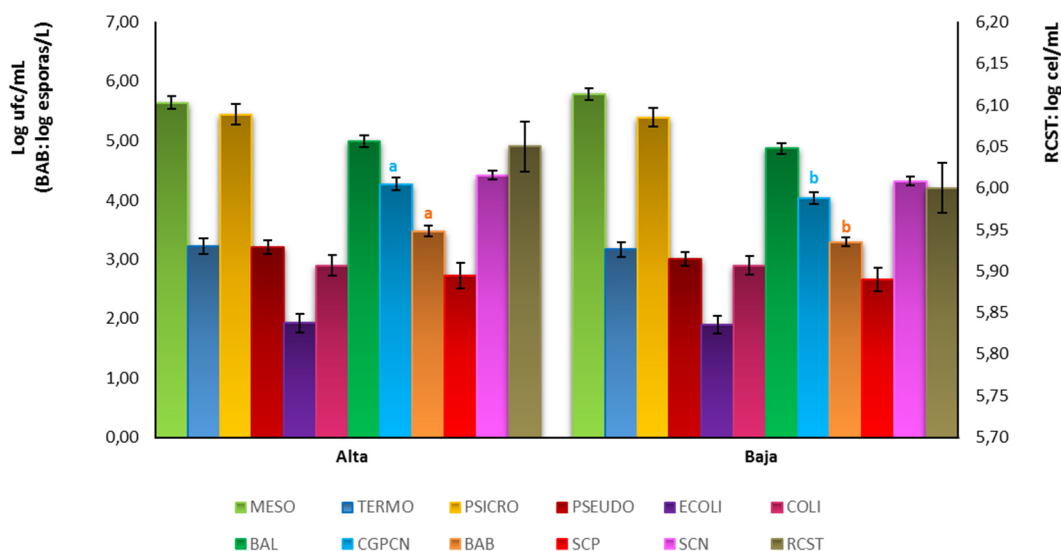


Figura 41. Recuentos de los grupos microbianos (MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas* spp., ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= grupo de los estafilococos coagulasa positivos, SCN= grupo de los estafilococos coagulasa negativos) y de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función del tipo de línea de la sala de ordeño (superíndices distintos a, b:  $p < 0,05$ ).

#### Número de puestos de la sala de ordeño.

El **número de puestos de la sala de ordeño** presenta también una influencia significativa ( $p < 0,05$ ) sobre el recuento de CGPCN, que es menor en salas con menos de 20 puestos de ordeño (3,95 log ufc/mL) (Figura 42). Esta misma tendencia también se observa para otros microorganismos de importancia ambiental como BAL y BAB. La mayor cantidad de animales ordeñados en salas de ordeño con un mayor número de puestos condicionaría un incremento de los recuentos de los microorganismos, debido a una mayor presencia de éstos en el ambiente. Arias (2013), también observa un mayor riesgo de contaminación por esporas butíricas (BAB), de origen ambiental, en explotaciones de mayor tamaño censal y con más presencia de polvo en sala de ordeño.

Asimismo, hay que señalar que los recuentos de ECOLI poseen una tendencia diferente al resto de microorganismos estudiados, con menores niveles en las salas de superior capacidad con más de 36 puestos de ordeño (1,63 log ufc/mL) (Figura 42), no observándose esta circunstancia en el recuento de coliformes. Las ganaderías de mayor tamaño censal y capacidad de sala, generalmente disponen de sistemas de limpieza automatizados de la sala que podrían estar condicionando una mayor eficiencia en el menor recuento de este tipo de microorganismos. En este sentido Murphy y cols. (2008), argumentan que la presencia de coliformes se relaciona con una limpieza de la ganadería menos eficiente en ocasiones puntuales, condicionado por deficiencias en la temperaturas de lavado o de uso de detergentes que ocasionan la contaminación por este tipo de microorganismos de desarrollo rápido.

Respecto al grupo de los estafilococos, se observa una tendencia a mayores recuentos cuando la capacidad de sala de ordeño es mayor (a partir de 20 puestos de ordeño), resultando significativo para SCN ( $p<0,05$ ) (Figura 42). La principal fuente de infección de estafilococos son las glándulas mamarias de animales infectados, pero también el mismo equipo de ordeño o las manos del personal que se ocupa del ordeño (Cullor, 1997). Un mayor número de puestos de ordeño está relacionado con un mayor número de animales en la sala al mismo tiempo, con lo que existiría mayor riesgo de contaminación de estos microorganismos (en general, menor cuidado en revisar posibles animales enfermos, el personal debe atender a más animales en menos tiempo, salas más grandes y mayor dificultad de limpieza, etc.).

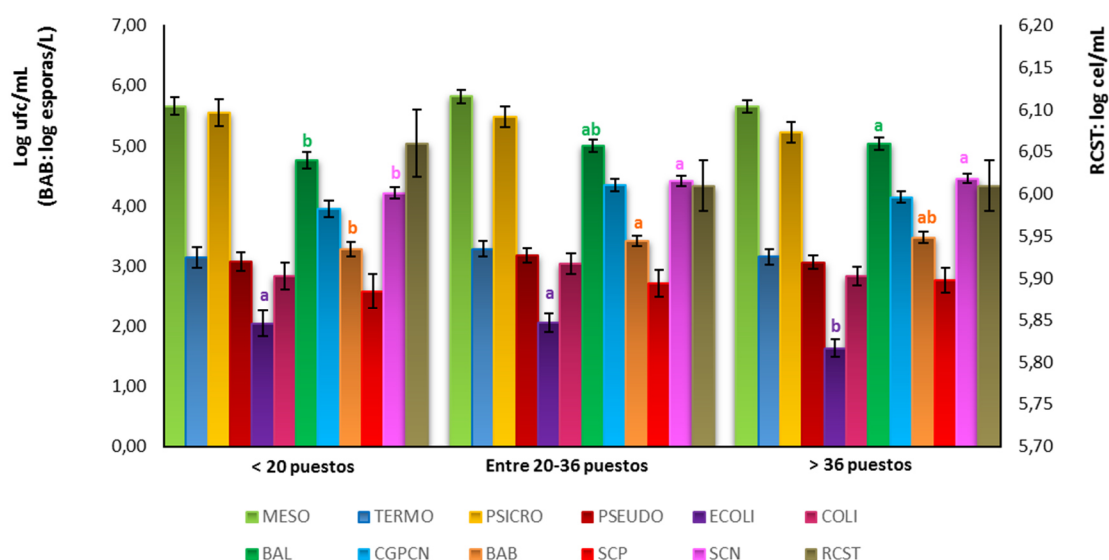


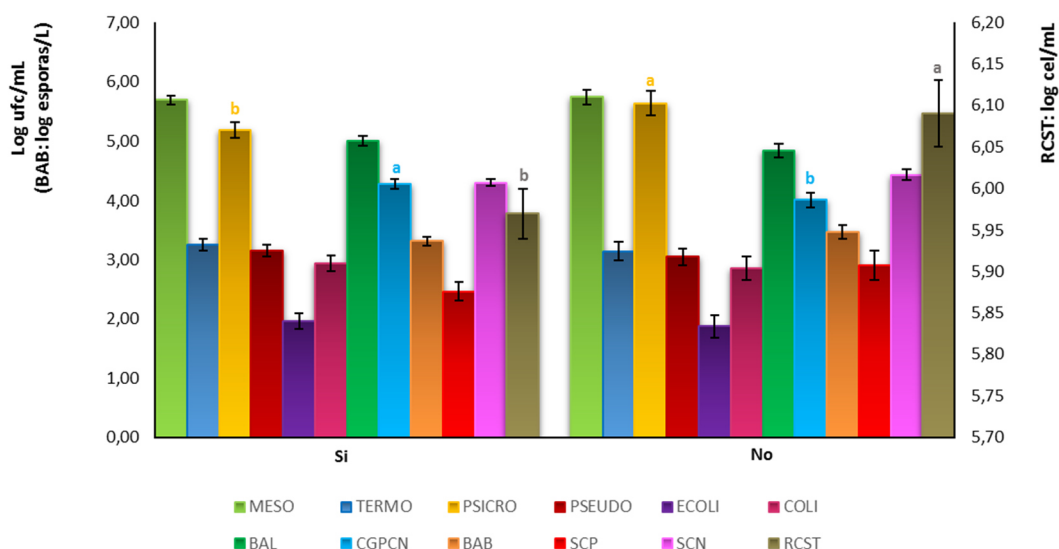
Figura 42. Recuentos de los grupos microbianos (MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas* spp., ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= grupo de los estafilococos coagulasa positivos, SCN= grupo de los estafilococos coagulasa negativos) y de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función del número de puestos de la sala de ordeño (superíndices distintos a, b:  $p<0,05$ ).

#### Corte de vacío previo a la retirada de pezoneras.

El factor **realización de corte de vacío previo a la retirada de pezoneras** presenta una influencia significativa ( $p<0,05$ ) en la variación de los grupos microbianos PSICRO y CGPCN, así como del RCST. Un deficiente manejo del ordeño, sin realización de la práctica de corte de vacío previo a la retirada de pezoneras provoca un aumento significativo del RCST (6,09 vs 5,97 log ufc/mL) (Figura 43), teniendo esta misma tendencia los recuentos de estafilococos, resultados en la línea de diversos estudios que indican su importancia sobre la sanidad intramamaria de las ovejas de ordeño. En vacuno lechero, Chassagne y cols. (2005) indican que deficientes prácticas de ordeño aumentan el riesgo del aumento de células somáticas. En ovino lechero, Peris y cols. (2004), también indican que

las malas prácticas en el ordeño provocan, entre otros la aparición de fluctuaciones de vacío, las cuales están relacionadas directamente con la aparición de mamitis.

Asimismo, los recuentos de PSICRO aumentan significativamente cuando no se realiza esta buena práctica (5,61 vs 5,19 log ufc/mL), aunque el recuento de CGPCN ha sido ligeramente menor cuando no se realiza el corte de vacío (4,01 vs 4,28 log ufc/mL) (**Figura 43**).



**Figura 43.** Recuentos de los grupos microbianos (MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas* spp., ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= grupo de los estafilococos coagulasa positivos, SCN= grupo de los estafilococos coagulasa negativos) y de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de la realización de corte de vacío previo a la retirada de pezoneras (superíndices distintos a, b:  $p < 0,05$ ).

#### Tanque de refrigeración de la leche.

El **tipo de tanque de refrigeración de la leche** es un factor que resulta significativo ( $p < 0,05$ ) en cuanto a la variación de ECOLI y SCN.

Los recuentos medios de ECOLI son superiores significativamente en las ganaderías que tienen instalados tanques cerrados respecto a los abiertos (2,18 vs 1,64 log ufc/mL), siendo esta tendencia similar para otros grupos microbianos tanto generales (MESO, TERMO, PSICRO) como de origen ambiental (CGPCN, BAL) (**Figura 44**). De estas observaciones se deduce que la comprobación de la eficacia de la limpieza debe realizarse de forma exhaustiva, sobre todo en caso de tanques cerrados, que disponen de sistema automático de limpieza, y cuya revisión visual es más dificultosa que en el caso de tanques abiertos; asimismo estos tanques cerrados suelen albergar un mayor volumen de leche que podría condicionar la carga microbiana. Respecto al recuento de estafilococos, SCN muestra niveles significativamente superiores en ganaderías con tanques cerrados respecto a los abiertos (4,48 vs log 4,26 ufc/mL) (**Figura 44**), siendo la misma tendencia para SCP, circunstancia que

estaría condicionada también por el mayor número de ovejas en ordeño, tal como ocurría en el caso de la mayor capacidad de la sala de ordeño, relacionándose con una mayor incidencia de infecciones intramamarias.

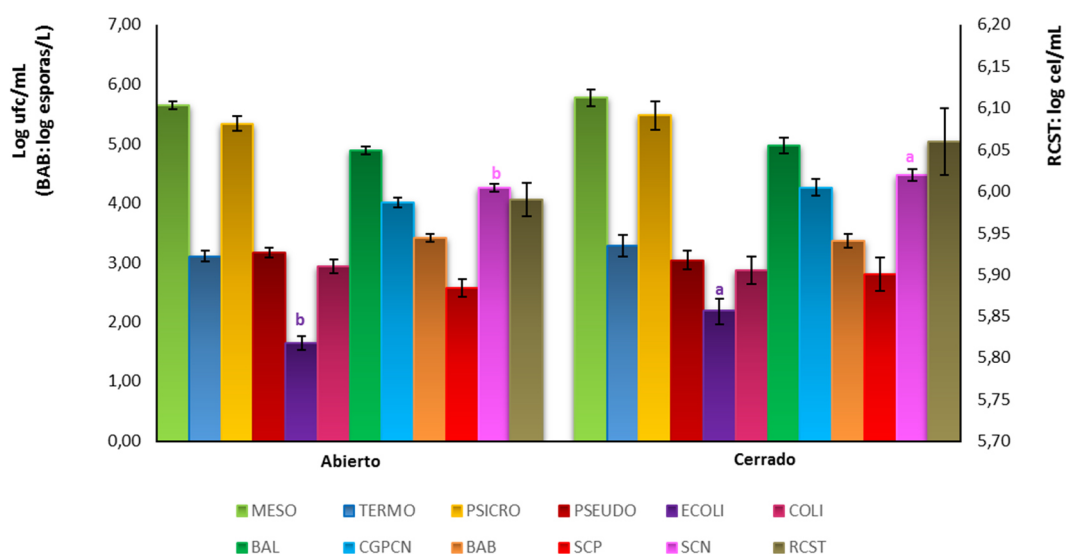


Figura 44. Recuentos de los grupos microbianos (MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas* spp., ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= grupo de los estafilococos coagulasa positivos, SCN= grupo de los estafilococos coagulasa negativos) y de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función del tipo de tanque de refrigeración de la leche (superíndices distintos a, b, c:  $p < 0,05$ ).

### Higiene de la sala de ordeño y lechería.

El factor **condición higiénica de la sala de ordeño y lechería** tiene una influencia significativa ( $p < 0,001$ ) en la variación del RCST y en la variación de TERMO y BAB ( $p < 0,05$ ).

Los recuentos de células somáticas (RCST) son significativamente superiores en las ganaderías calificadas con higiene deficiente de la sala de ordeño y lechería respecto a las de buena higiene (6,09 vs 5,96 log ufc/mL) (**Figura 45**), siendo la tendencia similar para los recuentos de SCN. Con ello, se comprueba que el mantenimiento higiénico, particularmente de la sala de ordeño, condiciona también la incidencia de infecciones intramamarias subclínicas. Respecto al resto de grupos microbianos, se comprueba también significativamente mayores recuentos de gérmenes de origen ambiental en ganaderías calificadas con higiene deficiente de sala y lechería respecto a una calificación de buena higiene, tanto para TERMO (3,36 vs 3,04 log ufc/mL) como para BAB (3,52 vs 3,27 log esporas/L) (**Figura 45**). Esta circunstancia es muy importante, ya que estos gérmenes, al resistir temperaturas de pasteurización, podrían condicionar no sólo los productos lácteos elaborados con leche cruda sino también los elaborados con leche tratada térmicamente y provocar hinchazón tardía en los quesos elaborados con esta leche. Arias (2013) indicó también en leche de ganaderías de raza Manchega, que las condiciones higiénicas de la sala de ordeño, la acumulación de polvo

principalmente, se considera un factor de riesgo para el aumento de gérmenes BAB. Asimismo, los recuentos elevados de TERMO se han asociado con problemas persistentes de higiene en la sala de ordeño, así como por la contaminación en el momento del ordeño a partir de ubres sucias (Jayarao y cols., 2003), circunstancia que se agrava en el ovino lechero por la ausencia de lavado de pezones previo al ordeño. En esta línea, también se observa la tendencia al aumento de gérmenes indicadores de deficientes condiciones higiénicas de las ganaderías, como PSICRO, PSEUDO y COLI.

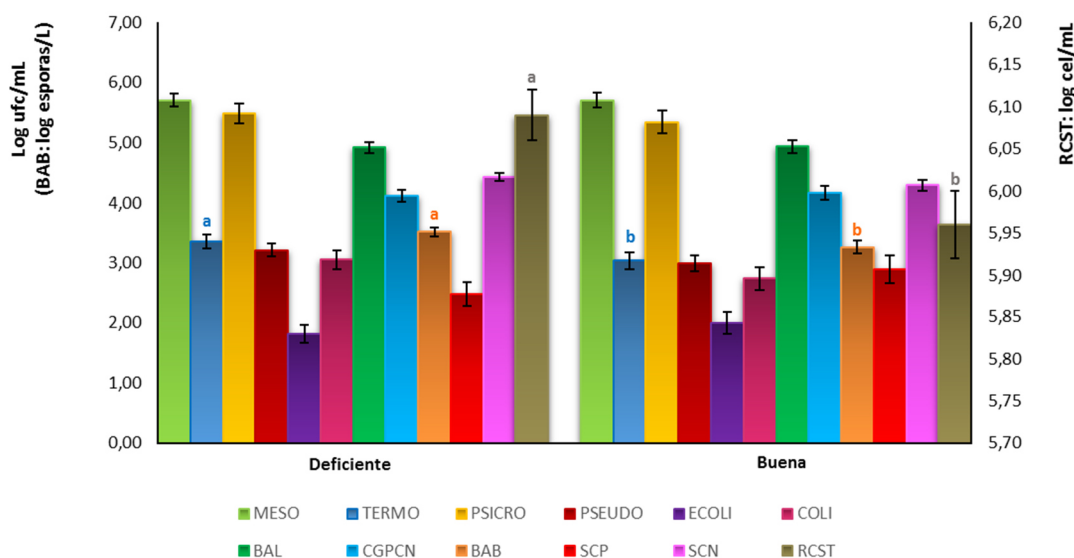


Figura 45. Recuentos de los grupos microbianos (MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas* spp., ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= grupo de los estafilococos coagulasa positivos, SCN= grupo de los estafilococos coagulasa negativos) y de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de la higiene de la sala de ordeño y la lechería (superíndices distintos a, b:  $p < 0,05$ ).

#### Protocolo de limpieza de la sala de ordeño y lechería.

El establecimiento de un **protocolo específico de limpieza de la sala de ordeño y lechería** tiene una influencia significativa ( $p < 0,05$ ) en la variación de diversos grupos microbianos, tanto generales (MESO, PSICRO) como aquellos importantes desde el punto de vista higiénico (COLI) y ambiental (BAL y CGPCN).

Los recuentos son significativamente menores en caso de establecimiento en las ganaderías de instrucciones específicas en la limpieza de sala de ordeño y lechería (control de suficiente cantidad de agua caliente, uso de detergentes específicos para ello, revisión de la eficiencia de la limpieza, etc.), tanto para los grupos de gérmenes generales MESO (5,50 vs 5,92 log ufc/mL) y PSICRO (5,61 vs 5,22 log ufc/mL), como para importantes grupos de origen ambiental como CGPCN (4,02 vs 4,27 log ufc/mL) y BAL (4,10 vs 4,76 log ufc/mL) (Figura 46). Especial importancia tiene el aumento de coliformes en leche de tanque de ganaderías que no tienen un protocolo de limpieza, y que resulta significativo para COLI (3,10 vs 2,71 log ufc/mL). La misma tendencia se observa también en los

recuentos de otros grupos como TERMO, PSEUDO y BAB (Figura 46). Elmoslemamy y cols. (2009b), determinaron también la influencia sobre la calidad de la leche, concretamente con un aumento del recuento de coliformes, asociado a las características de los detergentes de limpieza de la máquina de ordeño, a la temperatura del lavado, a la dureza del agua y a la alternancia de detergentes alcalinos y ácidos. Asimismo, Pantoja y cols., (2011) evidenciaron que el recuento de coliformes también se incrementaba considerablemente cuando se evidenciaban deficiencias en la limpieza de la máquina de ordeño. Alguno de los géneros de coliformes (*Klebsiella* y *Citrobacter*) son considerados gérmenes psicrotrofos (Griffiths y cols., 1987), lo que explicaría el incremento de éstos en nuestro estudio. El recuento de coliformes es un buen indicador de la higiene en el ordeño y diversos autores lo han correlacionado con el incremento de otros grupos microbianos bacterianos (Jayarao y cols., 2004; Pantoja y cols., 2009).

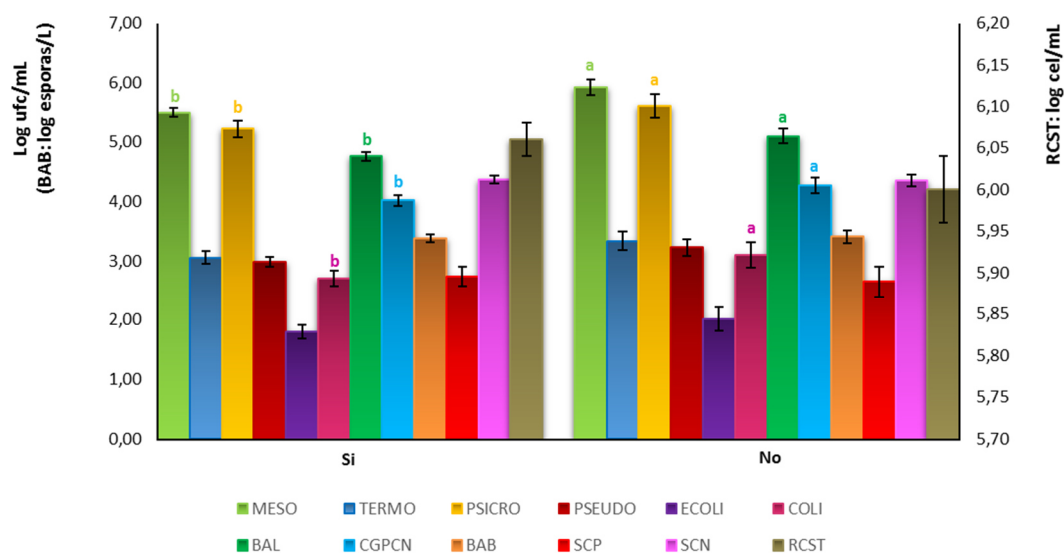


Figura 46. Recuentos de los grupos microbianos (MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas* spp., ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= grupo de los estafilococos coagulasa positivos, SCN= grupo de los estafilococos coagulasa negativos) y de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función del establecimiento de un protocolo específico de limpieza de la sala de ordeño y lechería (superíndices distintos a, b:  $p < 0,05$ ).

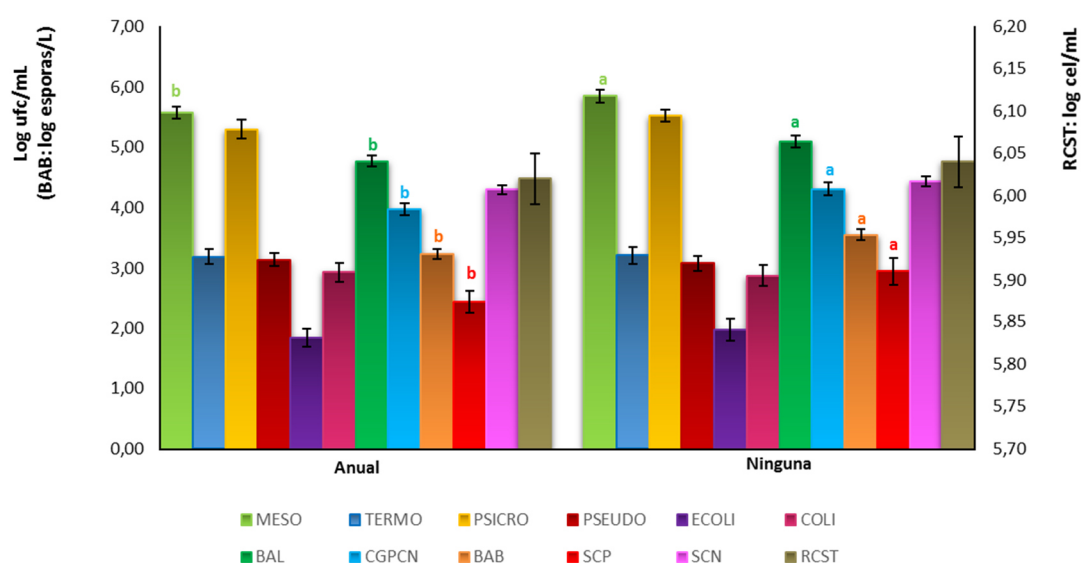
#### Revisión de la maquinaria de sala de ordeño y tanque de refrigeración de la leche.

Por último, el factor *periodicidad de revisión de la maquinaria de sala de ordeño y tanque de refrigeración de la leche* presenta una influencia significativa ( $p < 0,05$ ) en distintos grupos microbianos: MESO, BAL, CGPCN, BAB y SCP.

Así, se han observado recuentos significativamente superiores cuando no se efectúan revisiones periódicas del normal funcionamiento de los equipos de ordeño y lechería tanto para MESO (5,85 vs 5,57 log ufc/mL) como para otros grupos de microorganismos de origen ambiental; estos son BAL



(5,09 vs 4,77 log ufc/mL), CGPCN (4,31 vs 3,98 log ufc/mL), y BAB (3,55 vs 3,24 log esporas/L) (**Figura 47**). Este comportamiento es similar también para TERMO y PSICRO. Asimismo, los resultados muestran un aumento de estafilococos en leche de tanque cuando no se efectúa esta buena práctica en las ganaderías, siendo su variación significativa para SCP (2,95 vs 2,44 log ufc/mL) (**Figura 47**); en esta línea, *Olde Riekerink y cols. (2010)* señalaron que periodicidades superiores a un año en la revisión de la maquinaria de ordeño se asociaban también con mayores recuentos de SCP. Asimismo, *Besier y cols. (2016)* describen también un aumento en la incidencia de mastitis cuando se unen varias circunstancias (altos niveles de vacío de la sala de ordeño, cambios bruscos en la presión de ordeño y la práctica de sobreordeño, principalmente), que podrían ser evitados con revisión periódica de la sala.



**Figura 47.** Recuentos de los grupos microbianos (MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas* spp., ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= grupo de los estafilococos coagulasa positivos, SCN= grupo de los estafilococos coagulasa negativos) y de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de la periodicidad de revisión de la maquinaria de sala de ordeño y tanque de refrigeración de la leche (superíndices distintos a, b:  $p < 0,05$ ).



**RESUMEN DEL EFECTO DE LAS CARACTERÍSTICAS DE LA SALA DE ORDEÑO Y LECHERÍA SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DIFERENCIALES Y AL RECUENTO DE CÉLULAS SOMÁTICAS DE LA LECHE DE TANQUE DE LAS GANADERÍAS DE RAZA OVINA MANCHEGA.**

**SUMMARY OF THE EFFECT OF MILKING PARLOR AND MILK HOUSE ON THE DIFFERENTIAL MICROBIAL COUNT AND SOMATIC CELL COUNT OF BULK TANK MILK OF MANCHEGA SHEEP FARMS.**

PARÁMETROS <sup>1</sup>	MESO	TERMO	PSICRO	PSEUDO	ECOLI	COLI	BAL	CGPCN	BAB	SCP	SCN	RCST
Línea de sala												
Alta								↑	↑			
Baja								↓	↓			
Nº puestos												
< 20							↓	↓			↓	
Entre 20-36								↑				
> 36					↓		↑					
Corte de vacío												
Si			↓					↑				↓
No			↑					↓				↑
Tipo de Tanque												
Abierto					↓						↓	
Cerrado					↑						↑	
Higiene total												
Deficiente		↑							↑			↑
Buena		↓							↓			↓
Protocolo de limpieza												
Si	↓		↓			↓	↓	↓				
No	↑		↑			↑	↑	↑				
Revisión de maquinaria												
Anual	↓						↓	↓	↓	↓		
Ninguna	↑						↑	↑	↑	↑		

<sup>1</sup>MESO= mesófilos, TERMO= termófilos, PSICRO= psicrófilos, PSEUDO= *Pseudomonas* spp., ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= estafilococos coagulasa positivos, SCN= estafilococos coagulasa negativos, RCST= recuento de células somáticas de leche de tanque.

### 8.3.3. FACTORES RELACIONADOS CON LA PREVENCIÓN Y CONTROL DE INFECCIONES INTRAMAMARIAS.

El **Modelo Estadístico IV** ha sido utilizado para determinar la influencia sobre los recuentos microbianos y de células somáticas de la leche de tanque de las ganaderías de distintos factores relacionados con la prevención y el control de las infecciones intramamarias en las ganaderías: vacunación de mamitis (gangrenosa), tipo de tratamiento farmacológico de secado y desinfección de pezones post-ordeño (**Tabla 22**). Los recuentos medios y su significación estadística de los distintos grupos de microorganismos respecto a los factores estudiados se muestran en la **Tabla 23**.

**Tabla 22. Valores de F (% de la varianza explicada) y nivel de significación de los factores de variación relacionados con la estación y conjunto de variables representativas de buenas prácticas sanitarias, estudiadas para los recuentos microbianos y el recuento de células somáticas de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.**

PARÁMETROS <sup>1</sup>	FACTORES DE VARIACIÓN			
	Estación	Vacunación mamitis	Tipo de secado	Desinfección post-ordeño
MESO	1,64 (1,71) <sup>NS</sup>	0,38 (0,13) <sup>NS</sup>	5,22 (3,63)**	4,09 (2,84)*
TERMO	1,32 (1,44) <sup>NS</sup>	2,04 (0,74) <sup>NS</sup>	2,31 (1,67) <sup>NS</sup>	1,83 (1,33) <sup>NS</sup>
PSICRO	3,47 (4,18)*	0,87 (0,35) <sup>NS</sup>	4,16 (3,34)*	5,44 (4,37)**
PSEUDO	29,92 (25,71)***	0,37 (0,11) <sup>NS</sup>	0,65 (0,37) <sup>NS</sup>	0,04 (0,02) <sup>NS</sup>
ECOLI	12,63 (12,64)***	0,27 (0,09) <sup>NS</sup>	1,20 (0,80) <sup>NS</sup>	1,12 (0,75) <sup>NS</sup>
COLI	9,94 (11,55)***	1,61 (0,62) <sup>NS</sup>	9,46 (7,33)***	0,81 (0,63) <sup>NS</sup>
BAL	13,41 (12,86)***	0,84 (0,27) <sup>NS</sup>	4,74 (3,03)**	0,15 (0,09) <sup>NS</sup>
CGPCN	14,41 (13,61)***	0,84 (0,26) <sup>NS</sup>	9,59 (6,04)***	0,54 (0,34) <sup>NS</sup>
BAB	3,52 (3,80)*	0,01 (0,01) <sup>NS</sup>	3,43 (2,47)*	0,65 (0,47) <sup>NS</sup>
SCP	3,17 (3,59)*	0,04 (0,02) <sup>NS</sup>	1,14 (0,86) <sup>NS</sup>	0,74 (0,56) <sup>NS</sup>
SCN	9,60 (9,77)***	0,03 (0,01) <sup>NS</sup>	0,78 (0,53) <sup>NS</sup>	4,36 (2,96)*
RCST	0,49 (0,46) <sup>NS</sup>	11,61 (3,66)***	10,15 (6,39)***	15,05 (9,47)***

<sup>1</sup>MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas spp.*, ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= estafilococos coagulasa positivos, SCN= estafilococos coagulasa negativos, RCST= recuento de células somáticas de leche de tanque; \*\*\*p<0,001, \*\*p<0,01, \*p<0,05, <sup>NS</sup>p>0,05.

#### Vacunación frente a mamitis (gangrenosa).

Las ganaderías en las que se realiza **vacunación frente a mamitis (gangrenosa)** presentan una variación significativa (p<0,05) del recuento de células somáticas de leche de tanque (RCST). Se observan recuentos de células somáticas superiores en las ganaderías que realizan de forma rutinaria la vacunación frente a mamitis respecto a aquellas que no la aplican (6,12 vs 6,01 cel/ml) (**Figura 48**), siendo ambos resultados superiores a los umbrales fijados por [Ariznabarreta y cols. \(2002\)](#) para considerar un rebaño con buen estado de la sanidad mamaria (RCST<500.000 cel/ml).

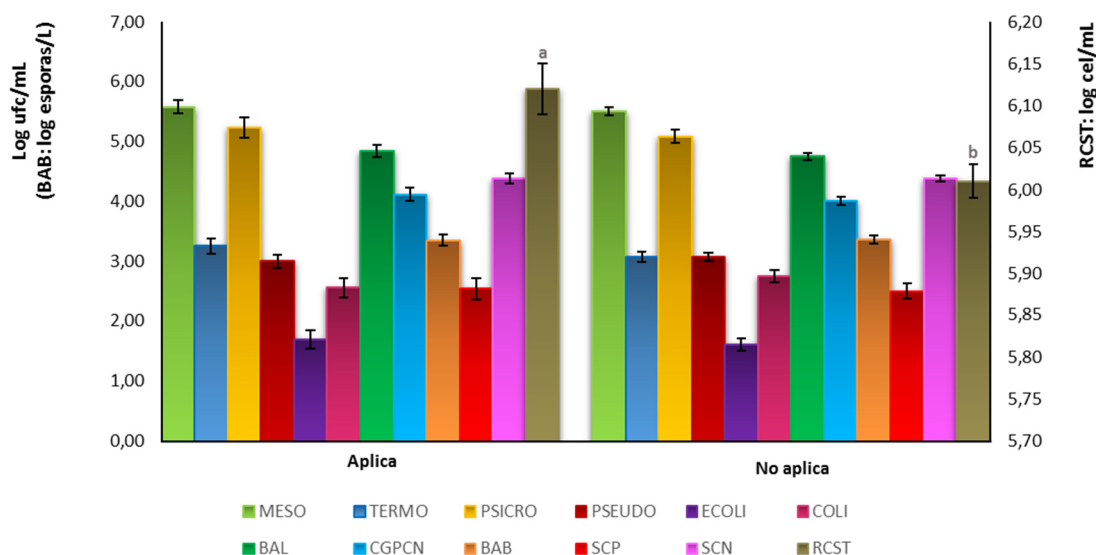


Figura 48. Recuentos de los grupos microbianos (MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas* spp., ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= grupo de los estafilococos coagulasa positivos, SCN= grupo de los estafilococos coagulasa negativos) y de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de la aplicación de vacunación frente a mamitis (gangrenosa) (superíndices distintos a, b:  $p < 0,05$ ).

Por su parte, los recuentos de estafilococos (SCP y SCN) no presentan diferencias significativas en las ganaderías estudiadas para este factor. La vacunación rutinaria frente a mamitis gangrenosa sólo se realiza en el 25% de las ganaderías de este estudio, al contrario de lo que ocurre respecto a agalaxia contagiosa, vacunación muy implantada desde hace años en las ganaderías de nuestro ámbito geográfico (Arias y cols., 1994). Si se comparan ambos estudios, el porcentaje de ganaderías que efectúan estas prácticas no ha evolucionado considerablemente, siendo los porcentajes del estudio del año 1994 respecto al que nos ocupa, para mamitis gangrenosa del 25 vs 25%, y para agalaxia contagiosa 75 vs 84% (Tabla 10.6.).

#### Tratamiento farmacológico de secado.

El **factor tipo de tratamiento farmacológico de secado de las ovejas** al final de la lactación presenta una influencia significativa ( $p < 0,05$ ) sobre los recuentos generales (MESO, TERMO y PSICRO), sobre algunos grupos de microorganismos diferenciales (COLI, BAL, CGPCN, Y BAB), así como sobre el RCST.

Así, el RCST presenta niveles significativamente inferiores cuando se realizan tratamientos de secado en las ganaderías, ya sea a todas las ovejas que pasan a periodo seco (general: RCST=6,05 cel/mL) o sólo de aquellas seleccionadas por criterios de altos recuentos celulares o CMT a lo largo de la lactación (selectivo: RCST=5,98 cel/mL), respecto a aquellas explotaciones que no realizan esta práctica (RCST=6,16 cel/mL) (Figura 49). Estos resultados confirman los obtenidos en otros estudios en ovino lechero, tanto en leche de ovejas individuales (Marco, 1994; Gonzalo y cols., 2004), como en leche de tanque (Gonzalo y cols., 2005, 2010). Con ello, se comprueba la disminución de los

recuentos celulares en lactaciones posteriores a la aplicación del tratamiento de secado, mejorando este índice de estimación de infecciones intramamarias. La aplicación de antibióterapias de secado también ha evolucionado a lo largo de los años en las ganaderías de oveja Manchega; a principios de la década de los noventa, sólo un 4% de las ganaderías la realizaban (Arias y cols, 1994), frente al 38% de las ganaderías de nuestro estudio (Tabla 10.6), en este caso, de forma tanto intramamaria como sistémica.

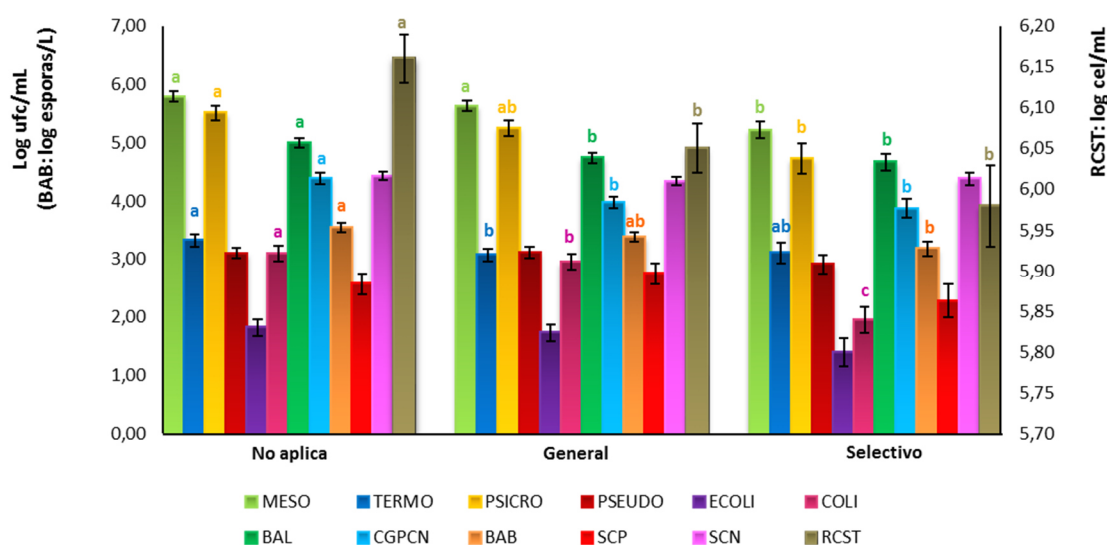


Figura 49. Recuentos de los grupos microbianos (MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas* spp., ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= grupo de los estafilococos coagulasa positivos, SCN= grupo de los estafilococos coagulasa negativos) y de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función del tipo de tratamiento farmacológico de secado (superíndices distintos a, b, c:  $p < 0,05$ ).

Respecto a la calidad microbiológica de la leche, se observan recuentos superiores en las ganaderías en que no realizan tratamientos de secado a los animales de ordeño. Esto ocurre tanto para los grupos de gérmenes generales (MESO y PSICRO) como para grupos de gérmenes importantes por su origen ambiental (BAL, CGPCN y BAB) e, incluso para ECOLI, que por su origen fecal, es considerado el más importante índice higiénico (Figura 49). Gonzalo y cols. (2010) también muestran una disminución significativa en el recuento de gérmenes totales en leche de tanque en las ganaderías de ovino lechero de Castilla y León que efectúan tratamiento de secado. Asimismo, De Garnica y cols., (2013c), muestran una disminución significativa de microorganismos psicrófilos en las ganaderías en las que se realiza esta terapia, y lo explican por la posible reducción de patógenos mamarios en relación a esta práctica, muchos de ellos psicrófilos potenciales. En nuestro estudio, sin embargo, no se observan diferencias significativas en el recuento de estafilococos (SCP y SCN) en las ganaderías que aplican terapia de secado, aunque el carácter errático en la prevalencia de estos microorganismos en las siguientes lactaciones podría explicar las diferencias. Estas circunstancias

darían aún más valor al recuento de células somáticas como indicador del estado de la sanidad mamaria en las ganaderías, dadas las coincidencias en estos estudios. Asimismo, [De Garnica y cols., \(2013c\)](#) no observan diferencias en los recuentos de CGPCN respecto a la aplicación de la terapia de secado, y lo argumentan por el deficiente estado higiénico de las ganaderías de ordeño manual de su estudio y la contribución de *Enterococcus* ambientales a este resultado. En nuestro estudio, en el que todas las ganaderías disponen de ordeño mecánico, los BAL, CGPCN y BAB son superiores cuando no se aplica la terapia de secado, práctica habitual de los programas de mastitis de las ganaderías de ovino lechero.

#### **Desinfección de pezones post-ordeño.**

El factor ***desinfección de pezones post-ordeño*** tiene una influencia significativa ( $p < 0,05$ ) sobre RCST, así como sobre los recuentos de microorganismos generales MESO y PSICRO. Para el RCST los niveles superiores se han obtenido en aquellas ganaderías en las que no se realiza ningún tipo de desinfección (RCST=6,16 cel/mL) o, se hace de forma esporádica (RCST=6,05 cel/mL). Los significativamente menores RCST se obtienen en las ganaderías donde se realiza la desinfección de pezones post-ordeño de forma sistemática (RCST=5,95 cel/mL) (**Figura 50**). Esta disminución del recuento celular coincide con los resultados en raza Manchega de [Gómez y cols. \(1997\)](#), tras aplicar, entre otras medidas, la rutina de desinfección post-ordeño de pezones, lo que provocó una disminución sustancial de los recuentos de células somáticas de ovejas individuales de 513.000 a 385.000 cel/mL. Por otra parte, se observa un recuento significativamente superior de estafilococos coagulasa negativos (SCN) en las ganaderías que no realizan esta práctica. La desinfección de pezones post-ordeño es una buena práctica que ha sido implantada en la gran mayoría de las ganaderías de nuestro ámbito geográfico. [Arias y cols. \(1994\)](#), indicaban que sólo un 6% de las ganaderías realizaban desinfección de pezones post-ordeño al principio de la década de los noventa, cuando aún predominaba el tipo de ordeño manual. En nuestro estudio un 90% de las ganaderías realizan esta práctica, un 60% de forma sistemática en cada uno de los ordeños, y un 30% de forma más esporádica (**Tabla 10.6**). Con el uso de los desinfectantes post-ordeño (sobre todo yodóforos, clorhexidina, y la alternancia de ellos) se está consiguiendo una mejora de la situación frente a las infecciones intramamarias, con los menores recuentos de SCN y células somáticas comentados. Sin embargo, esta práctica aún es susceptible de mejora, ya que su aplicación en el pezón no se realiza en muchas ocasiones, sobre todo, en las ganaderías que la realizan mediante pulverización (60% de ellas) (**Tabla 10.6**).

Por otra parte, la práctica sistemática de la desinfección post-ordeño también determina menores valores de gérmenes MESO y PSICRO (**Figura 50**). [Bramley y cols. \(1996\)](#), en ganado vacuno, indicaron que la desinfección post-ordeño provoca una disminución de la carga bacteriana de la piel que rodea

al pezón, lo que podría condicionar los menores recuentos de gérmenes totales mesófilos y psicrófilos de nuestro estudio.

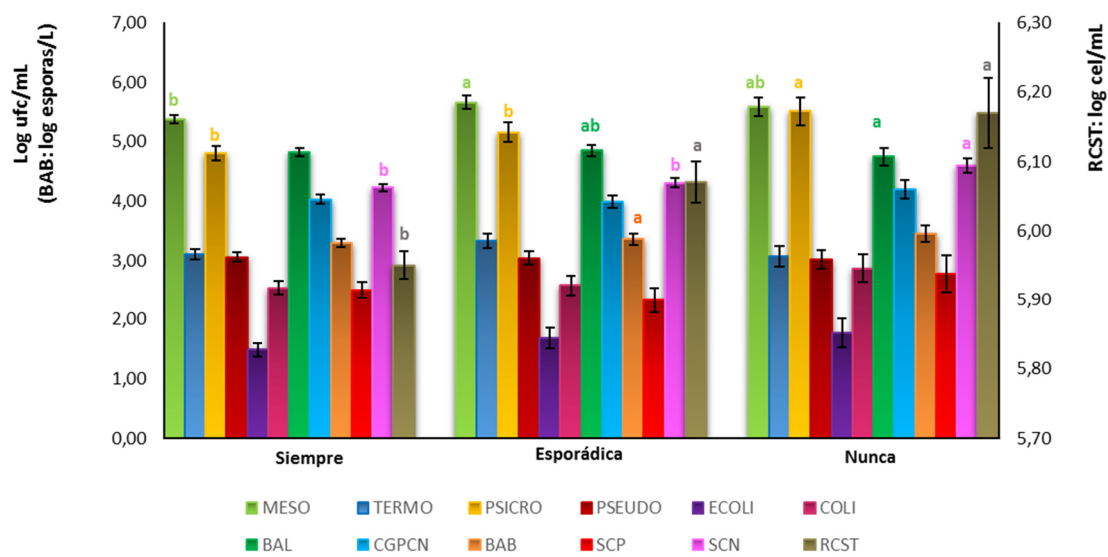


Figura 50. Recuentos de los grupos microbianos microbianos (MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas* spp., ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= grupo de los estafilococos coagulasa positivos, SCN= grupo de los estafilococos coagulasa negativos) y de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de la desinfección de pezones post-ordeño (superíndices distintos a, b:  $p<0,05$ ).

Tabla 23. Media de mínimos cuadrados de los recuentos microbianos y del recuento de células somáticas (RCST) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega según la estación y el conjunto de variables representativas del manejo sanitario de la explotación.

CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS <sup>1</sup>											
	MESO	TERMO	PSICRO	PSEUDO	ECOLI	COLI	BAL	CGPCN	BAB	SCP	RCST
<b>Estación</b>											
Primavera	5,40±0,11 <sup>b</sup>	3,14±0,12 <sup>a</sup>	5,01±0,17 <sup>b</sup>	2,90±0,11 <sup>b</sup>	1,18±0,16 <sup>b</sup>	2,86±0,16 <sup>a</sup>	4,68±0,10 <sup>b</sup>	3,75±0,11 <sup>b</sup>	3,56±0,09 <sup>a</sup>	2,76±0,20 <sup>a</sup>	4,24±0,08 <sup>b</sup>
Verano	5,56±0,10 <sup>ab</sup>	3,04±0,12 <sup>a</sup>	5,12±0,15 <sup>b</sup>	3,68±0,11 <sup>a</sup>	2,30±0,16 <sup>a</sup>	3,12±0,15 <sup>a</sup>	5,25±0,10 <sup>a</sup>	4,47±0,11 <sup>a</sup>	3,21±0,09 <sup>b</sup>	2,67±0,20 <sup>a</sup>	4,68±0,08 <sup>a</sup>
Otoño	5,54±0,10 <sup>ab</sup>	3,32±0,12 <sup>a</sup>	5,00±0,18 <sup>b</sup>	3,09±0,11 <sup>b</sup>	1,67±0,16 <sup>ab</sup>	2,46±0,15 <sup>b</sup>	4,68±0,10 <sup>b</sup>	4,29±0,10 <sup>a</sup>	3,34±0,09 <sup>b</sup>	2,11±0,20 <sup>b</sup>	4,29±0,08 <sup>b</sup>
Invierno	5,67±0,10 <sup>a</sup>	3,18±0,12 <sup>a</sup>	5,51±0,15 <sup>a</sup>	2,51±0,11 <sup>c</sup>	1,44±0,16 <sup>c</sup>	2,22±0,15 <sup>b</sup>	4,62±0,10 <sup>b</sup>	3,83±0,11 <sup>b</sup>	3,36±0,09 <sup>ab</sup>	2,61±0,19 <sup>a</sup>	4,32±0,08 <sup>b</sup>
<b>Vacunación de mastitis</b>											
Aplica	5,58±0,11 <sup>a</sup>	3,26±0,12 <sup>a</sup>	5,24±0,17 <sup>a</sup>	3,01±0,11 <sup>a</sup>	1,69±0,16 <sup>a</sup>	2,57±0,16 <sup>a</sup>	4,85±0,10 <sup>a</sup>	4,12±0,11 <sup>a</sup>	3,36±0,09 <sup>a</sup>	2,55±0,18 <sup>a</sup>	4,39±0,08 <sup>a</sup>
No aplica	5,51±0,07 <sup>a</sup>	3,08±0,08 <sup>a</sup>	5,09±0,11 <sup>a</sup>	3,08±0,07 <sup>a</sup>	1,61±0,10 <sup>a</sup>	2,76±0,10 <sup>a</sup>	4,76±0,06 <sup>a</sup>	4,02±0,07 <sup>a</sup>	3,37±0,06 <sup>a</sup>	2,51±0,13 <sup>a</sup>	4,38±0,05 <sup>a</sup>
<b>Tipo de secado</b>											
No aplica	5,79±0,09 <sup>a</sup>	3,32±0,10 <sup>a</sup>	5,51±0,13 <sup>a</sup>	3,10±0,09 <sup>a</sup>	1,82±0,14 <sup>a</sup>	3,10±0,13 <sup>a</sup>	5,00±0,08 <sup>a</sup>	4,39±0,10 <sup>a</sup>	3,55±0,08 <sup>a</sup>	2,57±0,18 <sup>a</sup>	4,43±0,07 <sup>a</sup>
General	5,63±0,09 <sup>a</sup>	3,07±0,11 <sup>b</sup>	5,25±0,14 <sup>ab</sup>	3,12±0,10 <sup>a</sup>	1,73±0,14 <sup>a</sup>	2,95±0,14 <sup>b</sup>	4,74±0,09 <sup>b</sup>	3,97±0,10 <sup>b</sup>	3,38±0,08 <sup>ab</sup>	2,75±0,18 <sup>a</sup>	4,34±0,07 <sup>a</sup>
Selectivo	5,22±0,15 <sup>b</sup>	3,11±0,18 <sup>ab</sup>	4,72±0,26 <sup>b</sup>	2,91±0,16 <sup>a</sup>	1,40±0,24 <sup>a</sup>	1,95±0,23 <sup>c</sup>	4,67±0,14 <sup>b</sup>	3,87±0,16 <sup>b</sup>	3,18±0,13 <sup>b</sup>	2,28±0,29 <sup>a</sup>	4,38±0,11 <sup>a</sup>
<b>Desinfección post-ordenio</b>											
Siempre	5,38±0,07 <sup>b</sup>	3,11±0,09 <sup>a</sup>	4,81±0,12 <sup>b</sup>	3,06±0,08 <sup>a</sup>	1,49±0,11 <sup>a</sup>	2,54±0,11 <sup>a</sup>	4,82±0,07 <sup>a</sup>	4,03±0,08 <sup>a</sup>	3,30±0,07 <sup>a</sup>	2,50±0,14 <sup>a</sup>	4,23±0,06 <sup>b</sup>
Esporádica	5,66±0,11 <sup>a</sup>	3,33±0,12 <sup>a</sup>	5,16±0,17 <sup>b</sup>	3,04±0,11 <sup>a</sup>	1,68±0,17 <sup>a</sup>	2,58±0,16 <sup>a</sup>	4,85±0,10 <sup>a</sup>	3,99±0,11 <sup>a</sup>	3,36±0,09 <sup>a</sup>	2,33±0,21 <sup>a</sup>	4,31±0,08 <sup>b</sup>
Nunca	5,59±0,16 <sup>ab</sup>	3,07±0,18 <sup>a</sup>	5,51±0,24 <sup>a</sup>	3,02±0,16 <sup>a</sup>	1,77±0,24 <sup>a</sup>	2,87±0,23 <sup>a</sup>	4,75±0,15 <sup>a</sup>	4,20±0,16 <sup>a</sup>	3,45±0,14 <sup>a</sup>	2,78±0,31 <sup>a</sup>	4,60±0,12 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>MESO= mesófilos, TERMO= termófilos, PSICRO= psicrófilos, PSEUDO= *Pseudomonas spp.*, ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= grupo de los estafilococos coagulasa positivos, SCN= grupo de los estafilococos coagulasa negativos, RCST= recuento de células somáticas de leche de tanque (MESO, TERMO, PSICRO, PSEUDO, ECOLI, COLI, BAL, CGPCN, SCP, SCN=logaritmo ufc/mL, BAB= logaritmo ufc/mL, RCST= logaritmo cel/mL), **superíndices distintos a, b, c: p<0,05.**

**RESUMEN DEL EFECTO DE LAS ACTUACIONES DE PREVENCIÓN Y CONTROL DE INFECCIONES INTRAMAMARIAS SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DIFERENCIALES Y AL RECUESTO DE CÉLULAS SOMÁTICAS DE LA LECHE DE TANQUE DE LAS GANADERÍAS DE RAZA OVINA MANCHEGA.**

**SUMMARY OF THE EFFECT OF THE PROCEEDINGS OF PREVENTION AND CONTROL OF INTRAMAMMARY INFECTIONS ON THE DIFFERENTIAL MICROBIAL COUNT AND SOMATIC CELL COUNT OF BULK TANK MILK OF MANCHEGA SHEEP FARMS.**

	MESO	TERMO	PSICRO	PSEUDO	ECOLI	COLI	BAL	CGPCN	BAB	SCP	SCN	RCST
Vacunación de mamitis												
Aplica												↗
No aplica												↘
Tipo de secado												
No aplica		↗	↗			↗		↗	↗			↗
General		↘							↘			
Selectivo	↘		↘			↘			↘			
Desinfección post-ordeño												
Siempre	↘											↘
Esporádica	↗											
Nunca			↗								↗	

<sup>1</sup>MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas spp.*, ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= grupo de los estafilococos coagulasa positivos, SCN= grupo de los estafilococos coagulasa negativos, RCST= recuento de células somáticas de leche de tanque.



#### **8.4. ANÁLISIS DE CORRESPONDENCIAS ENTRE LAS CATEGORÍAS DE LAS DISTINTAS CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS Y RECUENTO DE CÉLULAS SOMÁTICAS EN LECHE DE TANQUE, Y LOS FACTORES RELACIONADOS CON EL SISTEMA PRODUCTIVO DE LAS GANADERÍAS DE RAZA OVINA MANCHEGA.**

Con el objetivo de facilitar la comprensión de la relación entre los grupos de gérmenes generales y diferenciales de la leche de tanque de ovino lechero, con los diferentes factores de variación relacionados con el sistema productivo, se ha realizado un análisis de correspondencias.

##### **8.4.1. ANÁLISIS DE CORRESPONDENCIAS ENTRE LOS GRUPOS DE GÉRMENES GENERALES Y ESPECÍFICOS.**

En la **Figura 51** se pueden observar las distintas relaciones entre ellos: por una parte la fuerte asociación entre los recuentos inferiores de mesófilos totales (**mesol**), termodúricos (**termol**), psicrotrofos (**psicrol**), *Pseudomonas spp.* (**pseudol**), *Escherichia coli* (**ecolil**), otros coliformes distintos de *Escherichia coli* (**colil**), bacterias ácido lácticas (**ball**), cocos gram-positivos catalasa-negativos (**cgpcnl**); y por otra, se observa la fuerte asociación entre los recuentos superiores de mesófilos totales (**mesoS**), termodúricos (**termoS**), psicrotrofos (**psicroS**), *Pseudomonas spp.* (**pseudoS**), *Escherichia coli* (**ecoliS**), otros coliformes distintos de *Escherichia coli* (**coliS**), bacterias ácido lácticas (**balS**) y cocos gram-positivos catalasa-negativos (**cgpcnS**)

Igualmente, permite observar por una parte la asociación entre recuentos inferiores de esporas butíricas (**babl**), estafilococos coagulasa positivo (**scpl**) y estafilococos coagulasa negativos (**scnl**) y el recuento de células somáticas de leche de tanque (**rcsl**); y por otra parte entre los recuentos superiores de esporas butíricas (**babS**), estafilococos coagulasa positivo (**scpS**) y estafilococos coagulasa negativos (**scnS**) y el recuento de células somáticas de leche de tanque (**rcsS**).

La dimensión 1 explica el 26,79% de la variación y son (**MESO**) y (**BAL**) las variables con más capacidad de discriminación del análisis, al encontrarse más alejadas del origen de coordenadas. Por otro lado, la dimensión 2 explica el 10,69% de la variación, siendo el **RCST** la variable más discriminadora de esta dimensión.

Estos resultados permiten realizar una adecuada interpretación de los recuentos de gérmenes mesófilos totales (**MESO**) que son aquellos que, como se ha comentado, se realizan de forma rutinaria en los sistemas de control de la calidad de la leche, al distinguirse claramente su estrecha relación con los microorganismos de origen ambiental relacionados con las condiciones higiénicas de las ganaderías, y su escasa especificidad para determinar los riesgos relacionados con la sanidad mamaria (**SCP** y **SCN**) o con la tecnología quesera, como la hinchazón tardía (**BAB**).

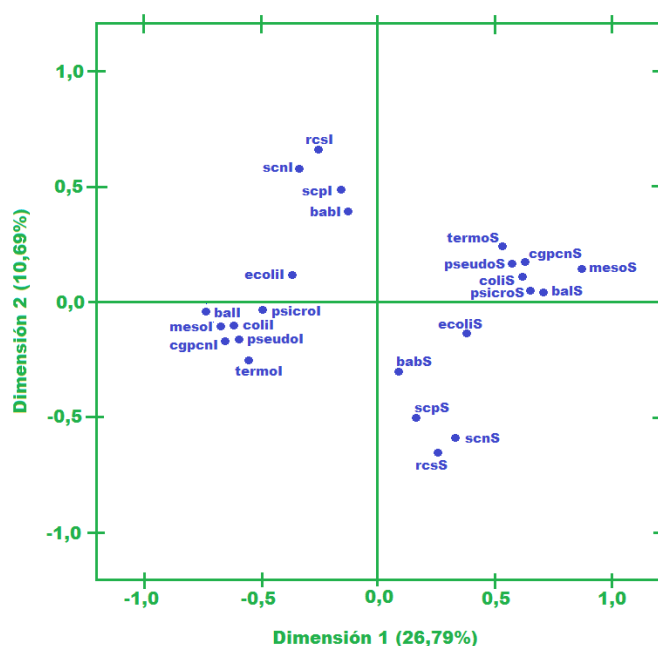


Figura 51. Análisis de correspondencias entre recuentos microbianos inferiores (mesol= mesófilos inferior, termol= termodúricos inferior, psicrol= psicrotrofos inferior, pseudol= *Pseudomonas* spp. inferior, ecolil= *Escherichia coli* inferior, colil= otros coliformes distintos de *Escherichia coli* inferior, ball= bacterias ácido lácticas inferior, cgpcnl= cocos gram-positivos catalasa-negativos inferior, babl= bacterias ácido butíricas inferior, scpl= estafilococos coagulasa positivos inferior, scnI= estafilococos coagulasa negativos inferior, rcsI= recuento de células somáticas totales inferior) y recuentos microbianos superiores (mesoS= mesófilos superior, termoS= termodúricos superior, psicroS= psicrotrofos superior, pseudoS= *Pseudomonas* spp. superior, ecolis= *Escherichia coli* superior, colis= otros coliformes distintos de *Escherichia coli* superior, balS= esporas butíricas superior, cgpcnS= cocos gram-positivos catalasa-negativos superior, babS= esporas butíricas superior, scpS= estafilococos coagulasa positivos superior, scnS= estafilococos coagulasa negativos superior, rcsS= recuento de células somáticas totales superior) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.

En general, en la **Figura 51** se obtiene una asociación de variables que da lugar a dos agrupaciones diferenciadas: por un lado el grupo de los mesófilos, termodúricos, psicrotrofos, *Pseudomonas* spp., *Escherichia coli*, otros coliformes, cocos gram-positivos catalasa-negativos y bacterias ácido lácticas; y por otro, el grupo de esporas butíricas, estafilococos, junto con el recuento de células somáticas de leche de tanque. A partir de este resultado se ha tomado el recuento de mesófilos totales, como representante del primer grupo de microorganismos, y el recuento de esporas butíricas y estafilococos totales, como representante del segundo grupo de variables, para con ellos realizar los análisis de correspondencias de los apartados siguientes (**Figuras 52, 53 y 54**).

#### 8.4.2. ANÁLISIS DE CORRESPONDENCIAS ENTRE LOS GÉRMEENES REPRESENTANTES Y LOS FACTORES RELACIONADOS CON LA ALIMENTACIÓN E HIGIENE DE LAS OVEJAS DE ORDEÑO.

La **Figura 52** ofrece una visión global de la asociación existente entre los recuentos de gérmenes representativos citados anteriormente (mesófilos totales, estafilococos y esporas butíricas) y el conjunto de factores relacionados con la alimentación de las ovejas de ordeño, su producción media

y la higiene de sus alojamientos. La dimensión 1 explica el 24,75% de la variabilidad, siendo los factores que más aportan en la separación los relacionados con las ganaderías de mayor tamaño censal (**TE3**) y el uso de unifeed elaborado en la propia ganadería para la alimentación de las ovejas de ordeño (**TaUP**), así como la utilización de forraje ensilado (**FoE**). Se observa como los anteriores factores tienen escasa relación con los grupos microbianos estudiados; serían necesarios más estudios en profundidad sobre la calidad microbiológica de las materias primas utilizadas en la elaboración del unifeed en la propia ganadería y el manejo en su elaboración, para describir su relación con la carga microbiana en leche de tanque y definir cuáles serían los factores de mayor riesgo. Por su parte, la dimensión 2 explica el 13,27% de la variabilidad, siendo los factores que más contribuyen a la separación el uso de unifeed comercial (**TaUC**), y la utilización de subproductos húmedos (**SubS**). A esta dimensión también contribuye el nivel de esporas butíricas; se observa en la figura la estrecha relación de los niveles inferiores (**babi**) con el uso de unifeed comercial (**TaUC**) y la no utilización de subproductos húmedos. Estos resultados se encuadran en la línea del estudio de [Arias y cols. \(2013\)](#), que determinaron el riesgo del aumento de esporas butíricas en leche de tanque por la utilización de subproductos húmedos en la ración de las ovejas de ordeño.

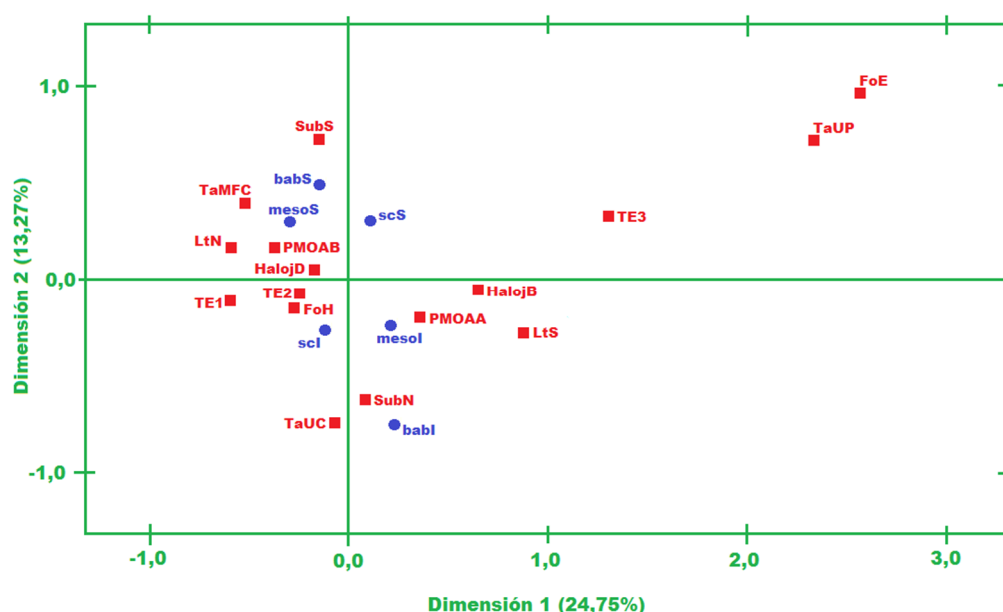


Figura 52. Análisis de correspondencias de las variables estudiadas según la producción media por oveja y año, la higiene del alojamiento, tamaño de la explotación y el tipo de manejo de la alimentación (cuadrados rojos donde TE1= tamaño de explotación pequeño, TE2 = tamaño de explotación mediano, TE3 = tamaño de explotación grande, PMOAB = producción media por oveja y año baja, PMOAB = producción media por oveja y año alta, HaloJD = higiene del alojamiento deficiente, HaloJB = higiene del alojamiento buena, LtS = usa lotes de alimentación, LtN= no usa lotes de alimentación, TaUC = unifeed comercial, TaUP = unifeed elaborado en la propia explotación, TaMFC= mezcla de forraje y concentrado, SubS = uso de subproductos, SubN = no uso de subproductos, FoH = forraje seco (heno), FoS = forraje húmedo (ensilado) y los recuentos microbianos (círculos azules donde mesol= mesófilos inferior, mesoS= mesófilos superior, babi= esporas butíricas inferior, babS= esporas butíricas superior, scl= estafilococos totales inferior, scS= estafilococos totales superior) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.

### 8.4.3. ANÁLISIS DE CORRESPONDENCIAS ENTRE LOS GÉRMEENES REPRESENTANTES Y LOS FACTORES RELACIONADOS CON LA SALA DE ORDEÑO Y LA LECHERÍA.

La **Figura 53** ofrece una visión general de la asociación existente entre los recuentos de los gérmenes representativos citados y el conjunto de factores relacionados con la obtención y conservación de la leche en las ganaderías estudiadas. La Dimensión 1 explica el 23,69% de la variabilidad, siendo los factores que más aportan en la separación los relacionados con las ganaderías con un tipo de tanque cerrado (**TanqueC**) y las que no aplican un protocolo de limpieza (**LimpN**), mientras que la dimensión 2 explica el 11,76% siendo en este caso las variables número de puestos de ordeño bajo (**Pso1**) y recuento de estafilococos alto (**scS**) las variables más explicativas en este caso.

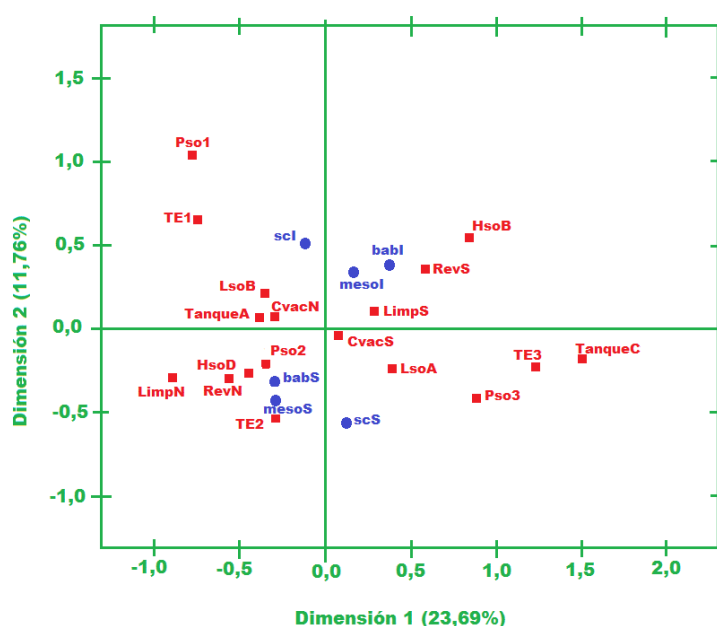


Figura 53. Análisis de correspondencias según el conjunto de variables representativas del ordeño higiénico (**cuadrados rojos** donde LsoA = línea de la máquina de ordeño alta, LsoB = línea de la máquina de ordeño baja, Pso1 = número de puestos de la máquina de ordeño bajo ( $\leq 20$ ), Pso2= número de puestos de la máquina de ordeño intermedio (20-36), Pso3= número de puestos de la máquina de ordeño alto ( $\geq 36$ ), CvacS = aplicación de corte de vacío previo a retirada de pezoneras, CvacN = no aplicación de corte de vacío previo a retirada de pezoneras, TanqueA = tipo de tanque de ordeño abierto, TanqueC= tipo de tanque de ordeño cerrado, HsoD = higiene total de la sala de ordeño y lechería deficiente, HsoB = higiene total de la sala de ordeño y lechería buena, LimpS = aplicación de un protocolo de limpieza, LimpN = no aplicación de protocolo de limpieza, RevS = frecuencia anual en la revisión de la maquinaria, RevN= no se realiza ningún tipo de revisión de la maquinaria) y los recuentos microbianos (**círculos azules** donde mesol= mesófilos inferior, mesoS= mesófilos superior, babl= esporas butíricas inferior, babS= esporas butíricas superior, scl= estafilococos totales inferior, scS= estafilococos totales superior) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.

En esta figura se puede observar la asociación entre los recuentos inferiores a P50 de mesófilos (**mesol**) y esporas butíricas (**babl**) con diversas variables relacionadas con la sala de ordeño y lechería: higiene buena (**HsoB**), aplicación de un protocolo específico de limpieza (**LimpS**) y revisión periódica de maquinaria de sala de ordeño y lechería (**RevS**). Además, se observa que recuentos inferiores a P50 de estafilococos (**scl**) mantiene cierta asociación con ganaderías pequeñas (**TE1**) y línea de ordeño baja (**LsoB**). Y, asimismo, se puede observar la asociación entre los recuentos superiores a

P50 de mesófilos (**mesoS**) y esporas butíricas (**babS**) con diversas variables relacionadas con la sala de ordeño y lechería: higiene deficiente (**HSOD**), no aplicación de un protocolo específico de limpieza (**LimpN**) y no revisión periódica de maquinaria de sala de ordeño y lechería (**RevN**), así como ganaderías de tamaño medio entre 600-1.200 ovejas (**TE2**) y con un número de puestos de ordeño entre 20 y 36 (**Pso2**). Además, se observa que recuentos superiores a P50 de estafilococos (**scS**) tendrían más relación con ganaderías grandes (**TE3**) y líneas de ordeño altas (**LsoA**).

Recuentos de **MESO** y **BAB** se han relacionado con factores vinculados a la higiene, limpieza y revisión de la ganadería. Así, recuentos inferiores de estos microorganismos se asocian con una buena higiene de la sala y lechería, el establecimiento de un protocolo de limpieza de la sala y el tanque, así como con la revisión rutinaria de la maquinaria. Por otro lado, los recuentos superiores para estos grupos se han obtenido en ganaderías que poseen mala higiene, no tienen un protocolo de limpieza y no realizan una revisión rutinaria de la maquinaria.

El tamaño de explotación se relaciona directamente con el tipo de línea de la sala y el número de puestos de la sala de ordeño, obteniéndose una relación más cercana con el recuento de estafilococos que si se compara con el resto de recuentos estudiados. Así, los **scl** se asocian con explotaciones pequeñas, que poseen sala de ordeño con línea baja, un número de puestos de ordeño menor (hasta 36 puestos) y tanque tipo abierto; por otro lado los **scS** aparecen en explotaciones de mayor tamaño, con salas de ordeño de línea alta, número de puestos superior a 36 y tanque tipo cerrado.

#### 8.4.4. ANÁLISIS DE CORRESPONDENCIAS ENTRE LOS GÉRMEENES REPRESENTANTES Y LOS FACTORES RELACIONADOS CON LA PREVENCIÓN Y CONTROL DE INFECCIONES INTRAMAMARIAS.

La **Figura 54** permite comprobar la asociación entre los recuentos de gérmenes representativos citados y el conjunto de factores relacionados con la sanidad mamaria. La dimensión 1 explica el 23,13% de la variación y son las variables no realización de desinfección de pezones post-ordeño (**DpN**) y realización de tratamiento de secado (**TsS**) las que más poder discriminante tienen, mientras que la dimensión 2 explica el 18,66% de la variación, siendo la variable aplicación de vacunación de mamitis (**VmaS**) la que más influye en la explicación de la variación en este caso.

En este gráfico se puede observar la asociación entre los recuentos inferiores a P50 de estafilococos totales (**scl**) con la variable realización de desinfección de pezones post-ordeño (**DpS**) y, en menor medida, con la realización de tratamiento de secado (**TsS**). Incluso se deja ver una cierta relación entre estas variables y recuentos inferiores a P50 de mesófilos totales (**mesol**) y esporas butíricas (**babl**). Asimismo, se observa la escasa asociación de la variable vacunación de mamitis (**VmaS**) con

el resto de variables. Por el contrario, existe una menor relación entre recuentos superiores a P50 de estafilococos totales (**scS**), esporas butíricas (**babS**) y, en menor medida, de mesófilos totales (**mesoS**) con las variables ausencia de realización de desinfección de pezones post-ordeño (**DpN**), no realización de tratamiento de secado (**TsN**) y no aplicación de vacuna de mamitis (**VmaN**).

Las conclusiones más significativas de esta figura son que la aplicación de un tratamiento de secado y la realización de la desinfección post-ordeño se relacionan con recuentos bajos, no sólo de **MESO**, sino también de recuentos más específicos como el de estafilococos totales, y teniendo en cuenta la asociación comentada entre éstos últimos y el recuento celular (**Figura 51**), la relación de éstas prácticas con el **RCST**, y que corrobora los resultados expuestos en el **Apartado 8.3.3** y en la **Tabla 23**. La vacunación frente a mamitis gangrenosa, sin embargo, no tiene una relación clara con los recuentos microbianos estudiados.

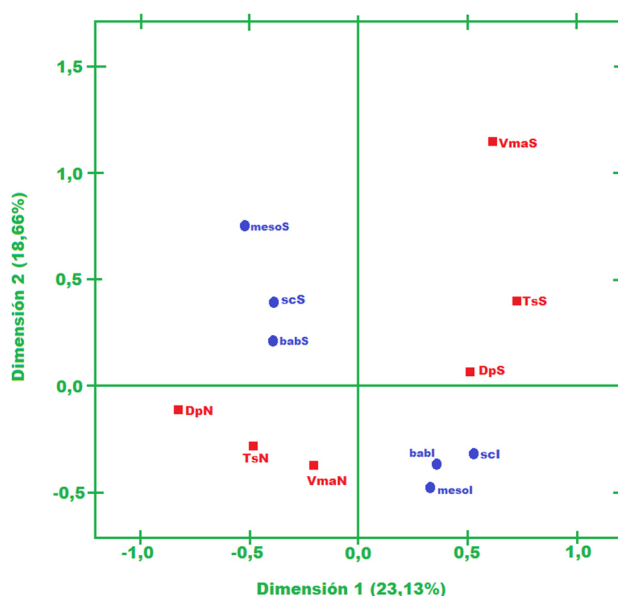


Figura 54. Análisis de correspondencias según el conjunto de variables representativas de buenas prácticas sanitarias (**cuadrados rojos** donde VmaS = aplicación vacuna para mamitis clínica, VmaN = no aplicación de vacuna para mamitis clínica, TsS = realiza algún tipo de secado, TsN = no realiza ningún tipo de secado, DpS = realiza la desinfección post-ordeño, DpN = no realiza la desinfección post-ordeño) y los recuentos microbianos (**círculos azules** donde mesoI= mesófilos inferior, mesoS= mesófilos superior, babI= esporas butíricas inferior, babS= esporas butíricas superior, scl= estafilococos totales inferior, scS= estafilococos totales superior) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.

**RESUMEN**

- ☞ Los microorganismos mesófilos totales mantienen relación con el resto de microorganismos estudiados (termodúricos, psicrotrofos, *Pseudomonas* spp., *Escherichia coli*, otros coliformes distintos de *Escherichia coli*, cocos gram-positivos catalasa-negativos y bacterias ácido lácticas), salvo con esporas butíricas y estafilococos totales.
- ☞ Se observa la relación de los mesófilos totales con la higiene de la ganadería.
- ☞ Los recuentos de esporas butíricas están relacionados con la alimentación de las ovejas de ordeño, particularmente con el uso de subproductos húmedos.
- ☞ Los recuentos de estafilococos totales están relacionados con las características derivadas de un mayor tamaño censal (número de puestos de ordeño, tipo de sala y de tanque de refrigeración de la leche), así como con la práctica de desinfección de pezones postordeño y la aplicación de tratamientos antibióticos en el secado de las ovejas.

**SUMMARY**

- ☞ Total bacterial counts are related to the rest of microorganisms studied (thermodurics, psycotrophs, *Pseudomonas* spp., *Escherichia coli*, coliforms other than *Escherichia coli*, gram-positive catalase-negative cocci and lactic acid bacteria), except with spores of butyric acid bacteria and total staphylococci.
- ☞ The relationship between total bacterial count and farm hygiene condition is observed.
- ☞ Spores of butyric acid bacteria are related with feeding management of dairy sheep, particularly the use of wet by-products.
- ☞ Total staphylococci count is related to characteristics derived from a larger size of the farm (number of milking stations, type of milking room, type of milk cooling tank), as well as with the practice of disinfecting post-milking nipples and the application of antibiotic treatments in the drying of dairy sheep.





## CAPÍTULO 9

### ESTUDIO DE LA CALIDAD TECNOLÓGICA DE LA LECHE Y SU RELACIÓN CON LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS, COLORIMÉTRICAS, HIGIÉNICO-SANITARIAS Y PRODUCTIVAS DE LAS GANADERÍAS DE RAZA OVINA MANCHEGA.

#### CONTENIDOS

<b>9.1.</b> Descripción de las características tecnológicas de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	<b>182</b>
<b>9.2.</b> Relaciones entre los parámetros físico-químicos, colorimétricos, higiénico-sanitarios y tecnológicos de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	<b>187</b>
<b>9.2.1.</b> Correlaciones de los parámetros tecnológicos y las características de calidad de la leche .....	<b>187</b>
<b>9.2.2.</b> Análisis de correspondencias de los parámetros tecnológicos y las características de calidad de la leche.....	<b>195</b>
<b>9.3.</b> Factores de variación que afectan a las distintas características tecnológicas en leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	<b>205</b>
<b>9.4.</b> Diferenciación del comportamiento tecnológico de la leche y relación con sus características físico-químicas, colorimétricas, higiénico-sanitarias y tecnológicas...	<b>216</b>
<b>9.4.1.</b> Descripción de las características tecnológicas de los grupos de coagulación .....	<b>217</b>
<b>9.4.2.</b> Relaciones entre las características tecnológicas y la calidad físico-química e higiénico-sanitaria de los grupos de coagulación.....	<b>227</b>
<b>9.5.</b> Estimación de las características tecnológicas de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.....	<b>234</b>



### 9.1. DESCRIPCIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS TECNOLÓGICAS DE LECHE DE TANQUE DE LAS GANADERÍAS DE RAZA OVINA MANCHEGA.

Las características tecnológicas de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega estudiadas se muestran en la **Tabla 24**.

La media para el **tiempo de coagulación (RCT)**, periodo que transcurre desde la adición de cuajo a la leche hasta el comienzo de la coagulación, es de 31,24 minutos, con una desviación estándar de 11,54 y un coeficiente de variación de 36,94. En la gráfica de distribución de las muestras (**Figura 55A**) se observa que el 43% de ellas tienen un tiempo de coagulación inferior a 30 minutos.

**Tabla 24. Estadísticos descriptivos de las características tecnológicas de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega (n=308).**

				PERCENTIL			IC 95%	
	Media	DS	CV	P25	P50	P75	Inferior	Superior
<b>PARÁMETROS<sup>1</sup></b>								
<b>RCT</b>	31,24	11,54	36,94	22,30	31,38	39,00	29,92	32,56
<b>K<sub>20</sub></b>	8,11	12,95	159,76	2,45	5,00	7,00	6,63	9,58
<b>A<sub>30</sub></b>	12,94	16,65	128,65	1,00	1,00	27,94	11,05	14,84
<b>A<sub>60</sub></b>	35,23	9,66	27,43	29,66	34,00	41,80	34,13	36,33
<b>RCUA</b>	3,15	0,49	15,67	2,77	3,09	3,55	3,09	3,21

DS= desviación estándar; CV= coeficiente de variación; P (25, 50 y 75)= Percentiles 25, 50 y 75, respectivamente; IC 95%= intervalo de confianza al 95%; <sup>1</sup> RCT= tiempo de coagulación, K<sub>20</sub>= velocidad de endurecimiento de la cuajada, A<sub>30</sub>= dureza del coágulo a los 30 minutos, A<sub>60</sub>= dureza del coágulo a los 60 minutos, RCUA= rendimiento de la cuajada (RCT y K<sub>20</sub>= minutos, A<sub>30</sub> y A<sub>60</sub>= milímetros, RCUA= grs/10 mL.

El valor medio para la **velocidad de endurecimiento de la cuajada (K<sub>20</sub>)**, periodo desde inicio de la coagulación hasta que la campana posee una amplitud de 20 milímetros, es de 8,11 minutos, con una desviación estándar elevada (DS=12,95) y con un coeficiente de variación de 159,76, el más alto de todos los parámetros estudiados. El 49% de las muestras poseen una velocidad de endurecimiento inferior a 5 minutos, y aproximadamente el 88% posee un valor K<sub>20</sub> menor de 10 minutos (**Figura 55B**).

Respecto a la dureza del coágulo, se han obtenido los valores de dureza a 30 minutos (A<sub>30</sub>) y a 60 minutos (A<sub>60</sub>), midiendo la amplitud de la campana de coagulación. La media para la **dureza del coágulo a los 30 minutos o dureza media (A<sub>30</sub>)** es de 12,94 mm, con una desviación estándar de 16,65 y un coeficiente de variación también elevado (CV=128,65), como ocurre con el parámetro anterior. En las gráficas (**Figura 55B y 55C**), se observan, tanto para A<sub>30</sub> como para K<sub>20</sub>, una distribución de frecuencias de muestras no gaussiana, circunstancia también señalada por otros autores en vacuno (Cecchinato y cols., 2013) y en ovino lechero (Pazzola y cols., 2014). En la

distribución de las muestras se observa una mayor proporción de éstas que a los 30 minutos aún no han coagulado (56%), frente al 44% que sí coagulan (**Figura 55C**). De éstas últimas, el 67% poseen una dureza media entre 20 y 50 mm (**Figura 55D**).

Es de destacar el alto porcentaje de muestras que no coagulan a treinta minutos en nuestro estudio, respecto a otros trabajos como el de [Manuelian y cols. \(2019\)](#), en el que todas las muestras coagulan en ese tiempo tras el inicio del análisis. Otros autores, en leche individual en ovino, también señalan menores porcentajes de muestras que no coagulan, entre el 0,44% y el 14,00% ([Pazzola y cols., 2013, 2014](#); [Bittante y cols., 2014](#); [Puleda y cols., 2017](#))

La media para la **dureza del coágulo a los 60 minutos o dureza máxima analizada ( $A_{60}$ )** es de 35,23 mm, con un coeficiente de variación de 9,66. El 85% de las muestras poseen unos valores entre 20 y 50 mm (**Figura 55E**).

Son muy escasas las investigaciones realizadas en leche de tanque de los parámetros tecnológicos en ganado ovino. Los resultados en leche de oveja de Castilla y León ([Cerrato-Nutecal, 2015](#)) son inferiores a los del presente estudio para tiempo de coagulación ( $RCT=22,91$  minutos) y  $K_{20}$  (4,50 minutos), al igual que los resultados del trabajo de [Manuelian y cols. \(2019\)](#), en leche de tanque de ovejas Sarda y Comisana:  $RCT=14,43$  minutos y  $K_{20}=2,26$  minutos. Asimismo, para poder comparar los tres estudios de una manera más objetiva, se ha obtenido la relación  $RCT/K_{20}$ , siendo ligeramente superior en nuestro estudio ( $RCT/K_{20}=4,39$ ) que en leche de ovejas de Castilla y León ( $RCT/K_{20}=3,37$ ) ([Cerrato-Nutecal, 2015](#)), y ambas inferiores al estudio de [Manuelian y cols. \(2019\)](#) ( $RCT/K_{20}=6,38$ ), lo que indica diferencias en las características de coagulación entre los distintos estudios. Una posible explicación es la duración del periodo de estudio, de un año completo en nuestro estudio y en el de [Cerrato-Nutecal \(2015\)](#), con muestras de leche tanque de ovejas en distinto estado de lactación y en diferentes estaciones del año, y mucho más concentrado en el tiempo (4 meses) en el estudio de [Manuelian y cols. \(2019\)](#), con muestras de leche de ovejas en el mismo estado de lactación.

Asimismo, los resultados de la dureza del coágulo a treinta minutos son ligeramente inferiores en nuestro estudio ( $A_{30}=12,94$  mm) que en leche de raza Assaf de Castilla y León ( $A_{30}=16,14$  mm) ([Cerrato-Nutecal, 2015](#)), teniendo ambas menores durezas que la del estudio de [Manuelian y cols. \(2019\)](#) ( $A_{30}=49,54$  mm). Por otra parte, los valores de dureza a 60 minutos son mucho mayores en nuestro estudio que en el proyecto [Cerrato-Nutecal \(2015\)](#): 35,23 vs 21,00 mm, e inferior la relación  $RCT/A_{60}$ : 0,89 vs 1,33.

Existen también diferencias entre nuestros resultados en leche de tanque y los de leche individual de oveja Manchega de los estudios de [Caballero-Villalobos y cols. \(2018a, 2018b\)](#). Estos, obtienen valores superiores a los del presente trabajo, tanto para  $RCT$  (35,38 vs 31,24 minutos), como para  $A_{30}$  (34,08 vs 12,94, milímetros) y  $A_{60}$  (62,54 vs 35,23, milímetros), aunque muy inferiores para la velocidad de endurecimiento de la cuajada  $K_{20}$  (3,48 vs 8,11 minutos).

Por el interés desde un punto de vista productivo, se ha estudiado también el **rendimiento de la cuajada (RCUA)**, expresado como la cantidad en gramos (grs) de cuajada que se obtienen a partir de 10 mililitros de leche (mL). El valor obtenido ha sido de 3,15 grs/10 mL (3,17 litros de leche/kilogramos de cuajada), con un coeficiente de variación de 15,67. El 90% de las muestras presenta un rendimiento entre 2,50 y 4,00 grs/10 mL de leche (**Figura 55F**), lo que evidencia un amplio rango de resultados, que desde el punto de vista de rentabilidad quesera es muy trascendente. Caballero-Villalobos y cols. (2018b) obtienen niveles similares para el rendimiento de la cuajada en muestras individuales de leche de oveja Manchega (3,25 grs/10 mL), aunque superiores a los obtenidos para la oveja de raza Assaf en Castilla y León, con un rendimiento de 2,64 grs/10mL (Cerrato-Nutecal, 2015).

En resumen, existe una gran disparidad en los resultados de los parámetros tecnológicos de la leche de oveja. Estas diferencias se pueden deber a una gran multitud de factores, entre los que cabe destacar la época del año, el tipo de muestra de leche utilizada en el estudio, individual o leche de tanque, muestra compuesta de leche de ovejas del mismo o distinto estado de lactación, etc. Asimismo, autores como Pazzola y cols. (2014) o Bencini (2002) también señalan que estas diferencias se deberían a las condiciones experimentales de cada ensayo: temperatura y/o pH de la leche, la composición y cantidad de cuajo utilizada en cada uno de ellos, así como diferencias entre razas y/o rebaños, que podrían condicionar la composición físico-química de la leche, particularmente del contenido en grasa y proteína. Este último factor también lo contemplan los estudios de Guinee y cols. (2007), en vacuno lechero, y Milan y cols. (2011), en ovino lechero Assaf en España, en los que se observa una disminución del rendimiento quesero debido al incremento cuantitativo de la producción de leche acompañado de una reducción en grasa y proteína.

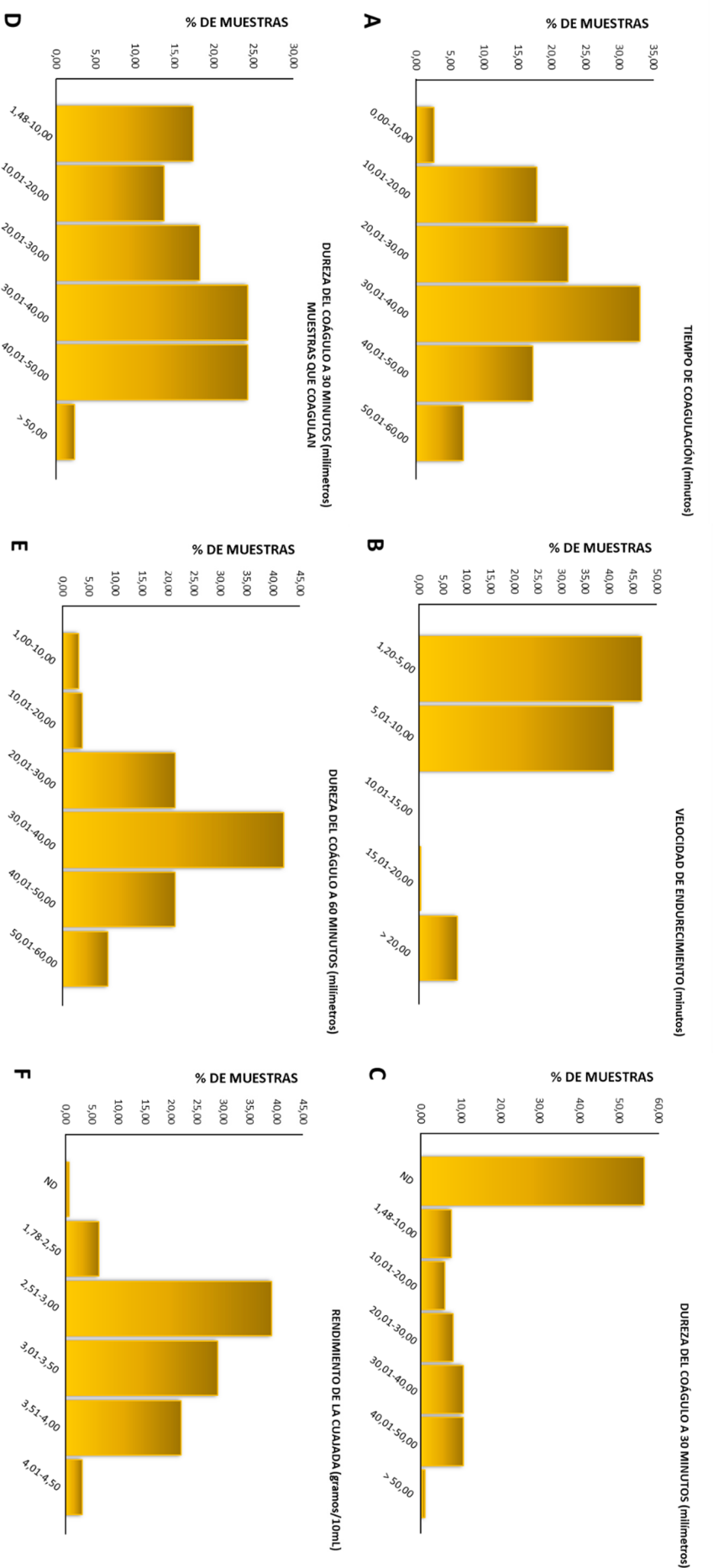


Figura 55. Frecuencia de distribución de RCT (tiempo de coagulación, A);  $K_{20}$  (velocidad de endurecimiento de la cuajada, B);  $A_{30}$  (dureza del coágulo a los 30 minutos, C);  $A_{30}$  – muestras que coagulan (dureza del coágulo a los 30 minutos sólo con las muestras que han coagulado, D);  $A_{60}$  (dureza del coágulo a los 60 minutos, E); RCUA (rendimiento de la cuajada, F) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega; (ND= no hay dato).

**RESUMEN**

- ☞ La leche de tanque de oveja Manchega muestra las siguientes características tecnológicas: alto tiempo de coagulación (RCT), alto rendimiento de la cuajada (RCUA) y alta variabilidad en el tiempo de endurecimiento de la cuajada ( $K_{20}$ ).

**SUMMARY**

- ☞ Manchega bulk-tank milk shows the following technological characteristics: high rennet clotting time (RCT), high curd yield (RCUA) and high curd firming time ( $K_{20}$ ).

## 9.2. RELACIONES ENTRE LOS PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS, COLORIMÉTRICOS, HIGIÉNICO-SANITARIOS Y TECNOLÓGICOS DE LECHE DE TANQUE DE LAS GANADERÍAS DE RAZA OVINA MANCHEGA.

### 9.2.1. CORRELACIONES DE LOS PARÁMETROS TECNOLÓGICOS Y LAS CARACTERÍSTICAS DE CALIDAD DE LA LECHE.

En primer lugar, resulta de interés el conocimiento de las **relaciones entre las distintas características tecnológicas de la leche**, con el objetivo de facilitar la comprensión del complejo proceso de coagulación de la leche a la vista de los resultados expuestos anteriormente. Para ello se ha realizado un estudio de las correlaciones entre los distintos parámetros estudiados (**Tabla 25**).

**Tabla 25. Coeficientes de correlación entre las características tecnológicas de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.**

PARAMETROS <sup>1</sup>	RCT	K <sub>20</sub>	A <sub>30</sub>	A <sub>60</sub>	RCUA
RCT	1,00	0,70***	-0,88***	-0,19**	-0,05 <sup>NS</sup>
K <sub>20</sub>		1,00	-0,66***	-0,32**	-0,13*
A <sub>30</sub>			1,00	0,09 <sup>NS</sup>	0,08 <sup>NS</sup>
A <sub>60</sub>				1,00	0,28***
RCUA					1,00

<sup>1</sup>RCT= tiempo de coagulación, K<sub>20</sub>= velocidad de endurecimiento de la cuajada, A<sub>30</sub>= dureza del coágulo a los 30 minutos, A<sub>60</sub>= dureza del coágulo a los 60 minutos, RCUA= rendimiento de la cuajada; \*\*\*p<0,001, \*\*p<0,01, \*p<0,05, <sup>NS</sup>p>0,05.

Los coeficientes de correlación (r) entre los parámetros tecnológicos (RCT, K<sub>20</sub>, A<sub>30</sub> y A<sub>60</sub>) se muestran significativos, con valores entre 0,13 y 0,88, salvo entre A<sub>30</sub> y A<sub>60</sub>. El rendimiento de la cuajada muestra correlaciones significativas con K<sub>20</sub> y A<sub>60</sub>.

El **tiempo de coagulación (RCT)** muestra una correlación alta y positiva con K<sub>20</sub> (r=0,70; p<0,001), y correlaciones negativas con la dureza del coágulo: alta con A<sub>30</sub> (r=-0,88; p<0,001) y de menor magnitud con A<sub>60</sub> (r=-0,19; p<0,01). En general, cuanto más tiempo tarde una muestra en terminar la primera fase del proceso de coagulación (RCT), más tiempo tardará en alcanzar los 20 milímetros de amplitud necesarios para el registro del valor K<sub>20</sub> y menor será la dureza del coágulo, ya que la cuajada tendrá menos tiempo para endurecerse antes de que concluya el análisis. Estos resultados coinciden con otros estudios en leche individual de vaca (Bittante y cols., 2015) y de oveja (Puleda y cols., 2017). Otros autores también han señalado las correlaciones altas y positivas entre RCT y K<sub>20</sub> para muestras individuales de leche de oveja Manchega (r=0,99; p<0,001) (Garzón, 1996) y Sarda (r=0,65; p<0,001) (Pazzola y cols., 2014). Estos mismos autores también han obtenido una relación negativa entre RCT y A<sub>30</sub>, coincidiendo con los resultados de nuestro estudio; sin embargo, mientras



que Garzón (1996) obtiene una correlación de igual magnitud a nuestros resultados ( $r=-0,78$ ;  $p<0,001$ ), Pazzola y cols. (2014) obtiene una relación de menor magnitud ( $r=-0,15$ ;  $p<0,001$ ).

Por su parte, la **velocidad de endurecimiento de la cuajada ( $K_{20}$ )** muestra una correlación significativa y negativa, alta con  $A_{30}$  ( $r=-0,66$ ;  $p<0,001$ ) y en menor grado con  $A_{60}$  ( $r=-0,32$ ;  $p<0,001$ ). Pazzola y cols. (2014) obtiene correlaciones similares entre  $K_{20}$  y  $A_{30}$  ( $r=-0,50$ ;  $p<0,001$ ) y entre  $K_{20}$  y  $A_{60}$  ( $r=-0,27$ ;  $p<0,001$ ), mientras que Garzón (1996) obtiene correlaciones de igual signo, pero de mayor magnitud: con  $A_{30}$  ( $r=-0,81$ ;  $p<0,001$ ) y con  $A_{60}$  ( $r=-0,76$ ;  $p<0,001$ ). También se observa una correlación negativa de escasa magnitud entre  $K_{20}$  y RCUA ( $r=-0,13$ ;  $p<0,05$ ), en la línea del estudio de Garzón (1996), en el que no se existe relación entre ambos parámetros.

Es de destacar que en nuestro estudio no existe correlación entre **la dureza del coágulo a los treinta ( $A_{30}$ ) y a sesenta minutos ( $A_{60}$ )**, como cabría esperar, a diferencia de lo señalado por Garzón (1996), que encuentra correlación baja y positiva entre  $A_{35}$  y  $A_{60}$  ( $r=0,28$ ;  $p<0,001$ ) y por Pazzola y cols. (2014), que encuentra una correlación alta y positiva ( $r=0,76$ ;  $p<0,001$ ). Esta falta de correlación entre los parámetros  $A_{30}$  y  $A_{60}$  evidencia la presencia de muestras de leche con comportamientos muy distintos en el proceso de coagulación, en principio relacionados con el valor medio del tiempo de coagulación, que puede deberse a multitud de factores (pH, carga microbiana, etc.), comportamientos que convendrían ser estudiados diferenciando el tipo de coagulación, como ha sido señalado por otros autores (Vacca y cols., 2015).

Por último, en este estudio, **el rendimiento en cuajada de la leche de tanque (RCUA)** no muestra correlación con la dureza a treinta minutos ( $A_{30}$ ), sino únicamente con la dureza a sesenta minutos ( $A_{60}$ ) ( $r=0,28$ ;  $p<0,001$ ). Sin embargo, Manca y cols. (2016) obtienen correlaciones de RCUA con  $A_{30}$  ( $r=-0,30$ ;  $p<0,001$ ), así como con RCT ( $r=0,34$ ;  $p<0,001$ ) y  $K_{20}$  ( $r=0,28$ ;  $p<0,001$ ). Otros autores como Garzón (1996) no obtiene correlación entre ninguno de los parámetros tecnológicos y el rendimiento en cuajada.

Por otra parte, las **correlaciones entre las características tecnológicas con las características físico-químicas e índices colorimétricos** de leche de tanque de oveja Manchega se presentan en la **Tabla 26**. Los coeficientes de correlación significativos ( $r$ ) entre las características físico-químicas y los parámetros tecnológicos muestran valores entre 0,11 y 0,66. La relación caseína total/grasa (Ct/G) y el parámetro de luminosidad  $b^*$  no presentan correlación con ningún parámetro tecnológico.

El **parámetro RCUA** muestra correlaciones significativas ( $p<0,001$ ) con la mayoría de los parámetros físico-químicos y colorimétricos, más elevadas con grasa ( $r=0,54$ ), proteína total ( $r=0,65$ ), extracto seco ( $r=0,66$ ), caseína total ( $r=0,58$ ), e intermedias con urea ( $r=0,31$ ), pH ( $r=0,41$ ) y la relación Pt/Es ( $r=0,27$ ), y de distinto signo con lactosa ( $r=-0,34$ ). En muestras de leche de tanque, González y cols. (2016) encuentran correlaciones también significativas, aunque de menor magnitud entre RCUA con grasa ( $r=0,22$ ) y extracto seco ( $r=0,28$ ), no existiendo correlaciones con proteína y caseína total. En

muestras individuales de leche de oveja Manchega, Garzón (1996) indica también correlaciones significativas ( $p < 0,05$ ) de signo similar, pero de menor magnitud entre RCUA y los parámetros grasa ( $r = 0,27$ ), proteína ( $r = 0,39$ ) y caseína ( $r = 0,24$ ), lo que podría deberse al tipo de muestra, y a que estas fueron recogidas en la misma época del año. Othmane y cols. (2002), en muestras individuales de leche de oveja Churra, señalan correlaciones fenotípicas de menor magnitud entre el RCUA con grasa ( $r = 0,37$ ), proteína ( $r = 0,31$ ) y caseína ( $r = 0,31$ ).

**Tabla 26. Coeficientes de correlación entre las características tecnológicas, y las características físico-químicas y los índices colorimétricos de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.**

PARAMETROS <sup>1</sup>	RCT	K <sub>20</sub>	A <sub>30</sub>	A <sub>60</sub>	RCUA
G	-0,11*	-0,12*	0,16**	0,15**	0,54***
Pt	-0,16**	-0,22***	0,20**	0,25***	0,65***
Es	-0,10 <sup>NS</sup>	-0,15*	0,16**	0,21**	0,66***
Ct	-0,16**	-0,23***	0,21**	0,23***	0,58***
La	0,22**	0,21**	-0,26***	-0,14*	-0,34***
Pt/Es	-0,10 <sup>NS</sup>	-0,16**	0,10 <sup>NS</sup>	0,17**	0,27***
Ct/G	0,00 <sup>NS</sup>	-0,06 <sup>NS</sup>	-0,02 <sup>NS</sup>	0,06 <sup>NS</sup>	-0,10 <sup>NS</sup>
U	-0,10 <sup>NS</sup>	-0,10 <sup>NS</sup>	0,10 <sup>NS</sup>	0,16**	0,31***
pH	0,17**	0,12*	-0,08 <sup>NS</sup>	0,05 <sup>NS</sup>	0,41***
L*	0,07 <sup>NS</sup>	0,14*	-0,13*	-0,12*	-0,39***
a*	-0,21**	-0,20**	0,24***	0,15**	0,13*
b*	0,10 <sup>NS</sup>	0,10 <sup>NS</sup>	-0,05 <sup>NS</sup>	0,02 <sup>NS</sup>	0,10 <sup>NS</sup>

<sup>1</sup>RCT= tiempo de coagulación, K<sub>20</sub>= velocidad de endurecimiento de la cuajada, A<sub>30</sub>= dureza del coágulo a los 30 minutos, A<sub>60</sub>= dureza del coágulo a los 60 minutos, RCUA= rendimiento de la cuajada, G=grasa, Pt=proteína total, Es=extracto seco, Ct=caseína total, La=lactosa, Pt/Es=proteína total/extracto seco, Ct/G= caseína total/grasa, U=urea, L\*= luminosidad, a\*= índice de rojo, b\*=índice de amarillo; \*\*\* $p < 0,001$ , \*\* $p < 0,01$ , \* $p < 0,05$ , <sup>NS</sup> $p > 0,05$ .

El **parámetro caseína total** presenta correlaciones bajas con RCT ( $r = -0,16$ ;  $p < 0,01$ ), K<sub>20</sub> ( $r = -0,23$ ;  $p < 0,001$ ), A<sub>30</sub> ( $r = 0,21$ ;  $p < 0,01$ ) y A<sub>60</sub> ( $r = 0,23$ ;  $p < 0,001$ ). En leche individual de oveja Manchega, Garzón (1996) señala correlaciones significativas ( $p < 0,05$ ) similares a las obtenidas en nuestro estudio entre caseína y RCT ( $r = -0,24$ ), K<sub>20</sub> ( $r = -0,21$ ), A<sub>35</sub> ( $r = 0,26$ ) y A<sub>60</sub> ( $r = 0,28$ ). Resultados de igual signo, aunque de mayor magnitud, indican Benedet y cols. (2018), en leche de tanque en vacuno lechero, con correlaciones entre caseína total y RCT ( $r = -0,24$ ), K<sub>20</sub> ( $r = -0,66$ ) y A<sub>30</sub> ( $r = 0,40$ ). La diferencia en resultados entre autores en la relación entre caseína total y los parámetros tecnológicos podría asociarse al tamaño de las micelas, a su mayor o menor hidratación y al contenido en calcio coloidal (Jaramillo, 2007).

Además, se han observado correlaciones bajas para **grasa o proteína total** con el resto de parámetros tecnológicos. Destaca la relación entre proteína total y K<sub>20</sub> ( $r = -0,22$ ;  $p < 0,001$ ), A<sub>30</sub> ( $r = 0,20$ ;  $p < 0,01$ ) y

$A_{60}$  ( $r=0,25$ ;  $p<0,001$ ). Garzón (1996) señala que el contenido graso de la leche tiene una influencia significativamente menor que la fracción proteica en los índices tecnológicos. Además, hay que tener en cuenta que autores como Auldist y cols. (2004) han señalado que, aunque existe relación entre los parámetros tecnológicos y la composición físico-química de la leche, sólo una parte de la varianza total de los parámetros de coagulación puede explicarse por dichas características físico-químicas.

Por último, cabe señalar las correlaciones negativas de la **lactosa** con la dureza del coágulo, de mayor magnitud con  $A_{30}$  ( $r=-0,26$ ;  $p<0,001$ ) que con  $A_{60}$  ( $r=-0,14$ ;  $p<0,05$ ), en la línea de los resultados de Pazzola y cols. (2018). Estos indican que la dureza del coágulo disminuye de forma inversamente proporcional al incremento en el contenido de lactosa de la leche. Asimismo, aunque de baja magnitud se observan en nuestro estudio correlaciones positivas entre lactosa y RCT ( $r=0,22$ ;  $p<0,01$ ) y entre lactosa y  $K_{20}$  ( $r=0,21$ ;  $p<0,01$ ), al contrario que en el estudio de Pazzola y cols. (2018), en el que observan una relación negativa entre el contenido en lactosa con RCT y  $K_{20}$ . Aún no se conocen los mecanismos que explican la asociación entre lactosa y las características tecnológicas, aunque podría asociarse con una modificación del porcentaje y composición de los minerales y proteínas, de acuerdo con el papel de la lactosa como regulador osmótico de la leche, tal y como explican Pazzola y cols. (2018).

Respecto a los **índices colorimétricos**, se destaca la correlación negativa entre RCUA y el índice  $L^*$  ( $r=-0,39$ ;  $p<0,001$ ). Asimismo, el índice  $a^*$  muestra correlaciones significativas con todos los parámetros tecnológicos, en la línea de los principales componentes de la leche (grasa o proteína), de signo negativo con RCT o  $K_{20}$ , y de signo positivo con dureza y RCUA. Estos resultados son muy interesantes desde el punto de vista de la monitorización de la calidad tecnológica de la leche con este método analítico, y plantea la posibilidad de realizar estudios en profundidad sobre este tema.

Asimismo, en la **Tabla 27** se presentan las correlaciones **entre las características tecnológicas con las características microbiológicas y el recuento de células somáticas** de leche de tanque de oveja Manchega.

El **parámetro RCT** presenta correlaciones negativas y significativas con diversos grupos microbianos, siendo de destacar con MESO ( $r=-0,26$ ;  $p<0,001$ ), PSEUDO ( $r=-0,30$ ;  $p<0,001$ ) y CGPCN ( $r=-0,30$ ;  $p<0,001$ ). El tiempo de coagulación disminuye conforme aumentan los recuentos de estos grupos microbianos. El **parámetro  $K_{20}$**  muestra un comportamiento similar a RCT, observándose correlaciones negativas y significativas con MESO ( $r=-0,36$ ;  $p<0,001$ ), PSEUDO ( $r=-0,23$ ;  $p<0,001$ ) y CGPCN ( $r=-0,27$ ;  $p<0,001$ ), destacando además la correlación del mismo signo con el recuento de PSICRO ( $r=-0,31$ ;  $p<0,001$ ). Por el contrario, el **parámetro  $A_{30}$**  presenta correlaciones positivas y significativas con la mayoría de recuentos, destacando con MESO ( $r=0,28$ ;  $p<0,001$ ), PSICRO ( $r=0,24$ ;  $p<0,001$ ), PSEUDO ( $r=0,24$ ;  $p<0,001$ ) y CGPCN ( $r=0,28$ ;  $p<0,001$ ). Así, la dureza del coágulo a 30 minutos ( $A_{30}$ ) aumenta cuando aumentan los recuentos de estos grupos microbianos. Asimismo, para

el **parámetro A<sub>60</sub>** se han encontrado correlaciones significativas, positivas con MESO ( $r=0,17$ ;  $p<0,01$ ), y negativas con BAB ( $r=-0,14$ ;  $p<0,01$ ), aunque de muy baja magnitud.

**Tabla 27. Coeficientes de correlación entre las características tecnológicas, y las características higiénico-sanitarias de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.**

PARAMETROS <sup>1</sup>	RCT	K <sub>20</sub>	A <sub>30</sub>	A <sub>60</sub>	RCUA
MESO	-0,26***	-0,36***	0,28***	0,17**	0,05 <sup>NS</sup>
TERMO	-0,11 <sup>NS</sup>	-0,16**	0,15**	0,01 <sup>NS</sup>	0,02 <sup>NS</sup>
PSICRO	-0,19**	-0,31***	0,24**	0,10 <sup>NS</sup>	0,09 <sup>NS</sup>
PSEUDO	-0,30***	-0,23***	0,24***	-0,03 <sup>NS</sup>	-0,33***
ECOLI	-0,10 <sup>NS</sup>	-0,02 <sup>NS</sup>	0,05 <sup>NS</sup>	0,03 <sup>NS</sup>	-0,15**
COLI	-0,22**	-0,21**	0,21**	-0,01 <sup>NS</sup>	-0,20**
BAL	-0,14*	-0,16**	0,11 <sup>NS</sup>	-0,02 <sup>NS</sup>	-0,23***
CGPCN	-0,30***	-0,27***	0,28***	0,01 <sup>NS</sup>	-0,22**
BAB	0,12*	0,14*	-0,01 <sup>NS</sup>	-0,14**	0,03 <sup>NS</sup>
SCP	0,09 <sup>NS</sup>	0,09 <sup>NS</sup>	-0,09 <sup>NS</sup>	-0,03 <sup>NS</sup>	-0,16**
SCN	0,01 <sup>NS</sup>	0,03 <sup>NS</sup>	-0,04 <sup>NS</sup>	-0,02 <sup>NS</sup>	-0,25***
RCST	0,13*	0,12*	-0,11*	-0,01 <sup>NS</sup>	-0,01 <sup>NS</sup>

<sup>1</sup>RCT= tiempo de coagulación, K<sub>20</sub>= velocidad de endurecimiento de la cuajada, A<sub>30</sub>= dureza del coágulo a los 30 minutos, A<sub>60</sub>= dureza del coágulo a los 60 minutos, RCUA= rendimiento de la cuajada, <sup>1</sup>MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas* spp., ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= estafilococos coagulasa positivos, SCN= estafilococos coagulasa negativos, RCST: logaritmo del recuento de células somáticas de leche de tanque; \*\*\* $p<0,001$ , \*\* $p<0,01$ , \* $p<0,05$ , <sup>NS</sup> $p>0,05$ .

En general, las **relaciones de RCT y K<sub>20</sub> con los diversos grupos microbianos**, tienen un comportamiento de distinto signo a las relaciones de la dureza del coágulo con estos grupos; es decir, un aumento del recuento de microorganismos en leche, especialmente de mesófilos totales, psicrotrofos, *Pseudomonas* spp., coliformes y de cocos gram-positivos catalasa-negativos, desencadenan coagulaciones más rápidas y cuajadas de una mayor dureza. Estas características del proceso de coagulación serían en principio deseables, si solamente se tuvieran en cuenta cuestiones meramente tecnológicas, pero tendrían implicaciones negativas desde el punto de vista sanitario, sobre todo, en leche con recuentos elevados de patógenos y en quesos elaborados con leche cruda.

El **RCUA** presenta correlaciones negativas y significativas con la mayoría de los grupos microbianos específicos, destacando para: PSEUDO ( $r=-0,33$ ;  $p<0,001$ ), SCN ( $r=-0,25$ ;  $p<0,001$ ) y BAL ( $r=-0,23$ ;  $p<0,001$ ). En la misma línea se observan también las correlaciones con ECOLI, COLI, CGPCN y SCP. Así, el rendimiento en la cuajada también disminuye cuando aumentan los recuentos de estos grupos microbianos, en la misma línea que los parámetros cualitativos RCT y K<sub>20</sub>. Se aprecia para el parámetro RCUA una mayor relación con los recuentos de los grupos microbianos específicos que

con los de grupos microbianos generales, lo cual justifica una vez más la importancia de conocer el recuento diferencial de microorganismos desde el punto de vista tecnológico.

Respecto al **recuento de células somáticas de la leche de tanque (RCST)** también se observan correlaciones significativas aunque muy débiles con RCT ( $r=0,13$ ;  $p<0,05$ ),  $K_{20}$  ( $r=0,12$ ;  $p<0,05$ ) y  $A_{30}$  ( $r=-0,11$ ;  $p<0,05$ ), resultados en la línea de la tendencia descrita por diversos estudios (Pirisi y cols., 2000b; Giangolini y cols., 2004; Raynal-Ljutovac y cols., 2007; Bittante y cols., 2012; Bobbo y cols., 2017; Pazzola y cols., 2018; Paschino y cols., 2019), lo que demuestra que la leche con altos RCST provoca coagulaciones más lentas y cuajadas más blandas. En leche individual de oveja Manchega, Caballero-Villalobos y cols. (2016) observan un aumento de RCT y de  $K_{20}$ , y una disminución de  $A_{30}$ , cuando se incrementan los recuentos celulares, en la línea de nuestro estudio, y explican que podría estar ocasionado por una mayor rotura de las caseínas debido al incremento de la actividad de la enzima plasmina asociada a la leche con elevados recuentos celulares. Es de destacar, que no se ha observado correlación entre el recuento de células somáticas (RCST) y el rendimiento de la cuajada (RCUA), a pesar que se podría esperar la tendencia contraria a la vista de la correlación significativa, citada anteriormente, entre RCUA y el recuento de estafilococos, en especial con los SCN ( $r=-0,25$ ), lo cual indicaría que la respuesta y el efecto del recuento celular asociado a la presencia de estafilococos está mediada por multitud de factores tanto infecciosos (Ariznabarreta, y cols., 2002; Sampimon y cols., 2010) como no infecciosos (Arias y cols., 2012). Estos resultados plantean la necesidad de profundizar en estas cuestiones, a la vista de los escasos estudios que han analizado la influencia de los microorganismos implicados en las infecciones intramamarias sobre las propiedades de coagulación en leche de oveja. Sólo algunas referencias, como la de Le Maréchal y cols. (2011) han señalado la influencia de estos microorganismos sobre el tiempo de coagulación y la velocidad de endurecimiento de la cuajada, indicando como el aumento del recuento de estafilococos provoca un incremento de estos parámetros tecnológicos.

### RESUMEN

#### Correlaciones entre los parámetros tecnológicos de la leche de tanque:

- Se verifica la existencia de correlación positiva entre el tiempo de coagulación (RCT) y la velocidad de endurecimiento de la cuajada ( $K_{20}$ ).
- Las correlaciones entre RCT o  $K_{20}$  con la dureza del coágulo han resultado significativas y negativas, altas con la dureza a 30 minutos ( $A_{30}$ ) y menores con la dureza de la cuajada a 60 minutos ( $A_{60}$ ). No se ha observado correlación entre  $A_{30}$  y  $A_{60}$ , debido a los altos tiempos de coagulación obtenidos en este estudio.
- El rendimiento de la cuajada (RCUA) mostró correlación con  $A_{60}$ .

#### Correlaciones entre los parámetros tecnológicos y las características físico-químicas y de cromaticidad de la leche de tanque:

- RCUA ha mostrado correlaciones altas y significativas con la mayoría de los componentes de la leche.
- Los parámetros tecnológicos de la leche muestran correlaciones ligeramente superiores con proteína total y caseína total, en tanto que son inferiores con la grasa.
- La luminosidad de la leche mantiene una correlación negativa y significativa con RCUA. Asimismo, el índice de rojo ( $a^*$ ) presenta correlaciones negativas con RCT y  $K_{20}$ , y positivas con la dureza y con RCUA.

#### Correlaciones entre los parámetros tecnológicos y las características higiénico-sanitarias de la leche de tanque:

- En general, el aumento de los microorganismos de la leche de tanque provoca una disminución de RCT,  $K_{20}$  y RCUA, y un aumento de la dureza de la cuajada.
- Determinados grupos microbianos específicos (*Pseudomonas spp*, coliformes, CGPCN, bacterias lácticas y estafilococos) mantienen correlaciones significativas con distintos parámetros tecnológicos, cuyos mecanismos de acción específicos convendría estudiar en profundidad.

### SUMMARY

#### **Correlations between the technological parameters of bulk-tank milk:**

- It has been obtained a correlation between rennet clotting time (RCT) and curd firming time ( $K_{20}$ ).
- There are significant and negative correlations between RCT or  $K_{20}$  and curd firmness, higher ones with curd firmness at 30 minutes ( $A_{30}$ ), and lower with curd firmness at 60 minutes ( $A_{60}$ ). No correlations between  $A_{30}$  and  $A_{60}$  has been observed, due to the high rennet clotting times obtained in this study.
- The curd yield (RCUA) showed a correlation with  $A_{60}$ .

#### **Correlations between technological parameters and the physico-chemical and chromaticity characteristics of bulk-tank milk:**

- RCUA has shown high and significant correlations with most milk components.
- The technological parameters of milk show slightly higher correlations with total protein and total casein, while the correlations with fat are lower.
- The luminosity of milk maintains a negative and significant correlation with RCUA. Likewise, the red index ( $a^*$ ) shows negative correlations with RCT and  $K_{20}$ , and positive correlations with curd firmness and RCUA.

#### **Correlations between technological parameters and the hygienic-sanitary characteristics of bulk-tank milk:**

- In general, the increase of microorganisms in bulk-tank milk causes a decrease in RCT,  $K_{20}$  and RCUA, and the increase of curd firmness.
- Some differential microbial groups (*Pseudomonas* spp., coliforms, CGPCN, lactic acid bacteria and staphylococci) maintain significant correlations with different technological parameters, whose specific mechanisms of action should be studied in depth.

### 9.2.2. ANÁLISIS DE CORRESPONDENCIAS DE LOS PARÁMETROS TECNOLÓGICOS Y LAS CARACTERÍSTICAS DE CALIDAD DE LA LECHE.

Para completar el estudio de la asociación de los parámetros tecnológicos se ha realizado el análisis de correspondencias entre con las características tecnológicas y los parámetros de calidad de la leche de tanque.

En primer lugar, se ha realizado un **análisis de correspondencias entre los parámetros tecnológicos y las principales características físico-químicas** de la leche de tanque. La asociación entre las variables categóricas físico-químicas y las establecidas para **el tiempo de coagulación (RCT)** se muestran en la **Figura 56A**. La dimensión 1 (47,15% de la varianza total), permite la diferenciación de dos grupos de muestras: por un lado se observa la asociación entre las categorías de mayor tiempo de coagulación (**RCTS**) con las de menor contenido en grasa (**G1**), proteína total (**Pt1**), caseína total (**Ct1**) y un mayor contenido en lactosa (**La2**), y por otra parte las categorías de menor tiempo de coagulación (**RCTI**) con las de mayor contenido en grasa (**G2**), proteína total (**Pt2**), caseína total (**Ct2**) y un menor contenido en lactosa (**La1**). Por su parte en la dimensión 2 (18,97% de la varianza total), se muestra por un lado la asociación entre las categorías de mayor tiempo de coagulación (**RCTS**) con pH más básicos (**pH2**), y por otro lado las de menor tiempo de coagulación (**RCTI**) con el pH más ácido (**pH1**).

La **Figura 56B** muestra la asociación entre las variables categóricas físico-químicas y las establecidas para **la velocidad de endurecimiento de la cuajada (K<sub>20</sub>)**, y que se comportan de forma similar a lo observado en la **Figura 56A**. Así, la dimensión 1 explica un 47,15% de la varianza total, permitiendo por un lado la asociación de las categorías de mayor velocidad de endurecimiento (**K20S**) y menor contenido en grasa (**G1**), proteína total (**Pt1**), caseína total (**Ct1**) y mayor contenido en lactosa (**La2**), y por otra parte las categorías de menor velocidad de endurecimiento de la cuajada (**K20I**) y mayor contenido en grasa (**G2**), proteína total (**Pt2**), caseína total (**Ct2**) y menor contenido en lactosa (**La1**). La dimensión 2 (18,22% de la varianza total) permite observar la asociación entre las categorías de mayor velocidad de endurecimiento de la cuajada (**K20S**) con las de pH más básico (**pH2**), y por otro lado las de menor velocidad de endurecimiento de la cuajada (**K20I**) y pH más ácido (**pH1**).

La asociación entre las variables categóricas físico-químicas y las establecidas para **la dureza del coágulo a los 30 minutos (A<sub>30</sub>)** se presentan en la **Figura 57A**. La dimensión 1 (47,32% de la varianza total), permite separar dos grupos de muestras: por un lado se observa la asociación entre las categorías de menor dureza del coágulo a 30 minutos (**A30I**) con las de menor contenido en grasa (**G1**), proteína total (**Pt1**), caseína total (**Ct1**) y un mayor contenido en lactosa (**La2**), y por otra parte las categorías de mayor dureza media del coágulo (**A30S**) con las de mayor contenido en grasa (**G2**), proteína total (**Pt2**), caseína total (**Ct2**) y un menor contenido en lactosa (**La1**). Por su parte, la dimensión 2 (18,39% de la varianza total), permite diferenciar por un lado la asociación entre las



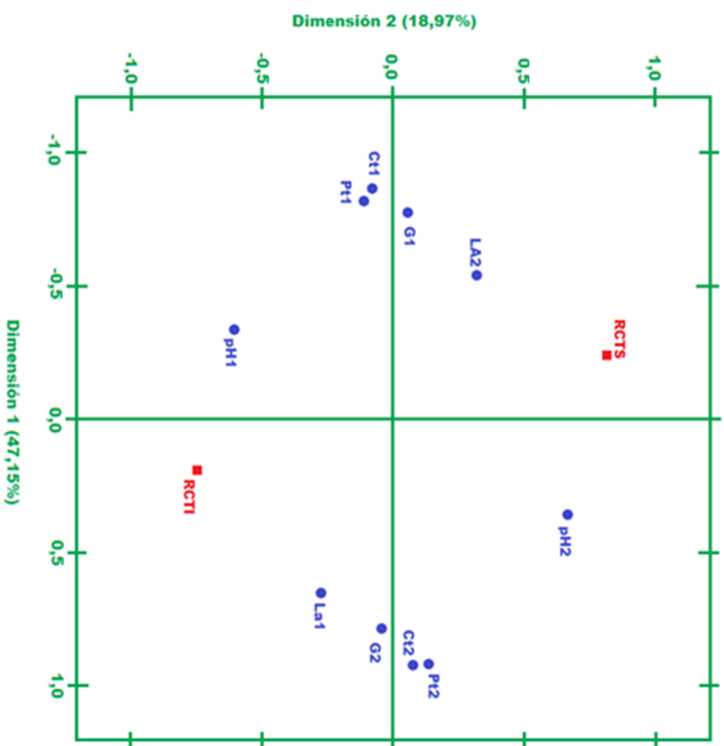
categorías de mayor dureza del coágulo a 30 minutos (**A30S**) con pH más ácido (**pH1**), y por otro las de menor dureza media del coágulo (**A30I**) con pH más básico (**pH2**).

La **Figura 57B** muestra la asociación entre las variables categóricas físico-químicas y las establecidas para la **dureza del coágulo a los 60 minutos (A<sub>60</sub>)**. La dimensión 1 (47,32% de la varianza) señala una relación entre las categorías de las variables similar a la señalada en la dimensión 1 para la **Figura 57A**, y en la que por un lado se obtiene la asociación entre las categorías de menor dureza del coágulo a 60 minutos (**A60I**) con las de menor contenido en grasa (**G1**), proteína total (**Pt1**), caseína total (**Ct1**) y un mayor contenido en lactosa (**La2**), y por otra parte las categorías de mayor dureza del coágulo a 60 minutos (**A60S**) con las de mayor contenido en grasa (**G2**), proteína total (**Pt2**), caseína total (**Ct2**) y un menor contenido en lactosa (**La1**). Sin embargo, y a diferencia de lo que ocurre en la **Figura 57A**, tanto en la dimensión 1 como en la dimensión 2 (16,55% de la varianza total) se observa una mayor relación entre las categorías de menor dureza del coágulo a 60 minutos (**A60I**) y pH más ácido (**pH1**), por un lado y las categorías de mayor dureza del coágulo a 60 minutos (**A60S**) y pH más básico (**pH2**), por otro lado.

El estudio de asociación entre las variables categóricas físico-químicas y las establecidas para el **rendimiento de la cuajada (RCUA)** se muestra en la **Figura 57C**. La dimensión 1, que explica un 52,36% de la varianza total, permite diferenciar, por un lado, la asociación entre las categorías de menor rendimiento de la cuajada (**RCUAI**) con las de menor contenido en grasa (**G1**), proteína total (**Pt1**) y caseína total (**Ct1**), y por otro lado la categoría de mayor rendimiento de la cuajada (**RCUAS**) se asocia con las de mayor contenido en grasa (**G2**), proteína total (**Pt2**) y caseína total (**Ct2**). Por su parte, en la dimensión 2 (17,97% de la varianza total) se observa una asociación, por un lado, entre las categorías de menor rendimiento de la cuajada (**RCUAI**), un mayor contenido en lactosa (**La2**) y un pH más ácido (**pH1**), y por otra parte, la relación entre las categorías de mayor rendimiento de la cuajada (**RCUAS**), un menor contenido en lactosa (**La1**) y un pH más básico (**pH2**).

En resumen, el estudio de asociación permite corroborar y clarificar en parte los resultados de las correlaciones expuestos en el **Apartado 9.2.1**. Los parámetros tecnológicos se relacionan de forma similar con los principales componentes de la leche, confirmando que cuajadas más rápidas y de mayor consistencia están relacionadas con una mayor riqueza en cuanto a contenido en grasa, proteína y caseína. La relación del pH con estos parámetros tiene otros condicionantes; por una parte está clara la asociación de leche con pH más ácido con una coagulación más rápida aunque con menor rendimiento; sin embargo, la relación entre la dureza del coágulo y el pH no es tan clara, al igual que observamos en el estudio de correlaciones: cuajadas más consistentes a treinta minutos se relacionan con pH más ácidos, mientras que a sesenta minutos las cuajadas más consistentes se relacionan con pH más básicos, lo que indicaría que el pH de la leche es uno de los factores que condicionan el proceso de endurecimiento de la cuajada.

A



B

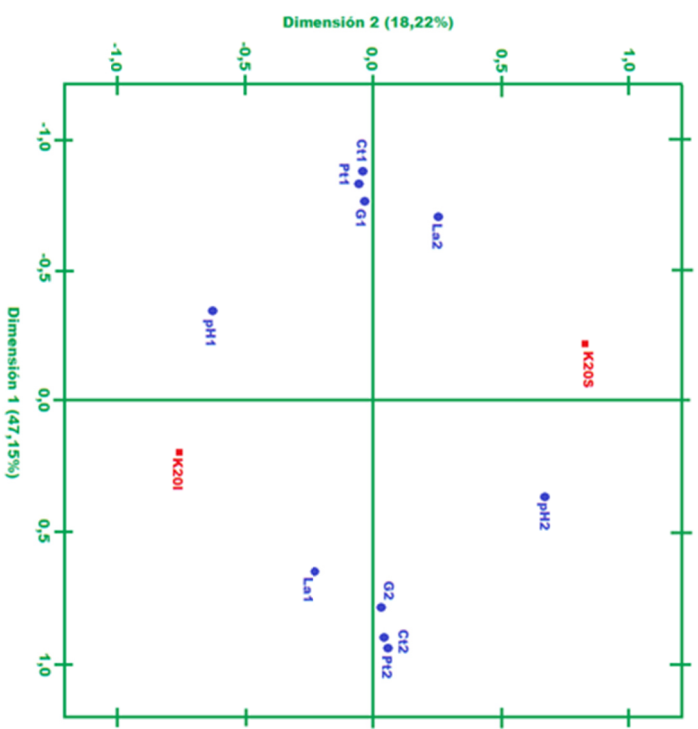


Figura 56. Análisis de correspondencias entre las categorías de tiempo de coagulación (A: **cuadrados rojos** donde RCTI= tiempo de coagulación inferior, RCTS= tiempo de coagulación superior) y velocidad de endurecimiento de la cuajada (B: **cuadrados rojos** donde K20I= velocidad de endurecimiento inferior, K20S= velocidad de endurecimiento superior) y las características físico-químicas (**círculos azules** donde G1= grasa baja, G2= grasa alta; Pt1= proteína total baja, Pt2= proteína total alta; Ct1= caseína total baja, Ct2= caseína total alta; La1= lactosa baja, La2= lactosa alta; pH1= pH inferior, pH2= pH superior) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.

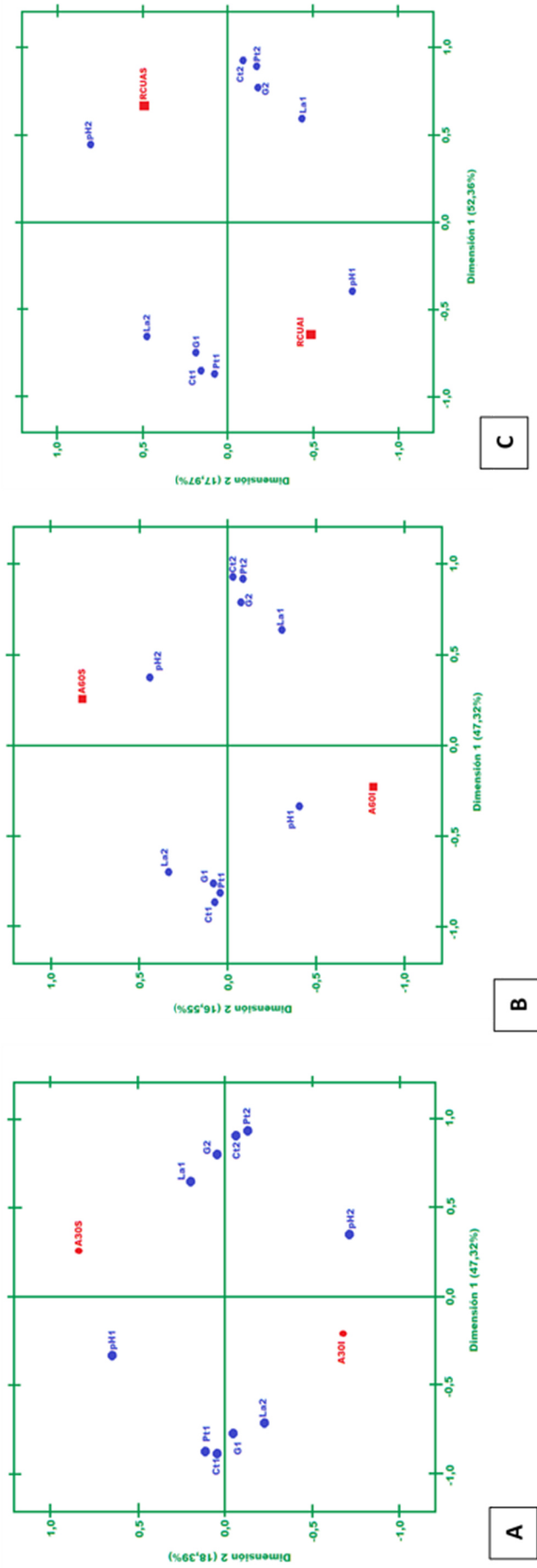


Figura 57. Análisis de correspondencias entre las categorías de dureza del coágulo a los 30 minutos (A: **cuadrados rojos** donde A30I= dureza del coágulo a los 30 minutos inferior, A30S= dureza del coágulo a los 30 minutos superior), dureza del coágulo a los 60 minutos (B: **cuadrados rojos** donde A60I= dureza del coágulo a los 60 minutos inferior, A60S= dureza del coágulo a los 60 minutos superior) y rendimiento de la cuajada (C: **cuadrados rojos** donde RCUAI= rendimiento de la cuajada inferior, RCUAS= rendimiento de la cuajada superior) y las características físico-químicas (**círculos azules** donde G1= grasa baja, G2= grasa alta; Pt1= proteína total baja, Pt2= proteína total alta; Ct1= caseína total alta; La1= lactosa alta, La2= lactosa baja, pH1= pH inferior, pH2= pH superior) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.

Por otra parte, la **Figura 58** muestra la **asociación entre las variables categóricas de los índices colorimétricos, características tecnológicas y pH de la leche de tanque**. La dimensión 1, que explica el 26,58% de la varianza total, permite diferenciar las categorías fijadas para el tiempo de coagulación (RCT), la velocidad de endurecimiento ( $K_{20}$ ), la dureza del coágulo a 30 minutos ( $A_{30}$ ), el índice de rojo ( $a^*$ ) y el índice de amarillo ( $b^*$ ); las variables que más poder discriminante tienen en esta dimensión son RCT y  $A_{30}$ . Por otro lado, la dimensión 2 (19,45%) diferencia las categorías de la dureza del coágulo a 60 minutos ( $A_{60}$ ), el rendimiento de la cuajada (RCUA), la luminosidad ( $L^*$ ) y pH; las variables RCUA y pH son las que más poder discriminante tienen en esta dimensión.

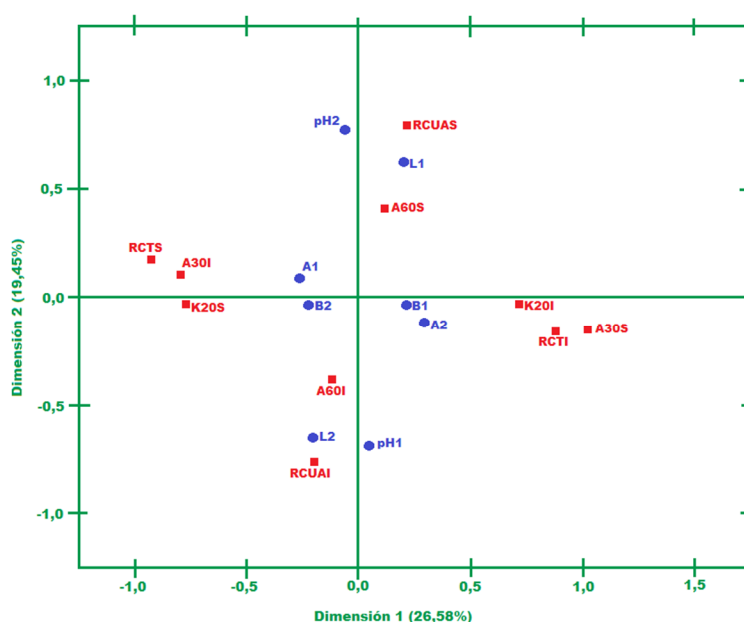


Figura 58. Análisis de correspondencias entre las categorías del tiempo de coagulación, velocidad de endurecimiento de la cuajada, dureza del coágulo a los 30 minutos y dureza del coágulo a los 60 minutos (**cuadrados rojos** donde RCTI= tiempo de coagulación inferior, RCTS= tiempo de coagulación superior; K20I= velocidad de endurecimiento superior, K20S= velocidad de endurecimiento inferior; A30I= dureza del coágulo a los 30 minutos inferior, A30S= dureza del coágulo a los 30 minutos superior; A60I= dureza del coágulo a los 60 minutos inferior, A60S= dureza del coágulo a los 60 minutos superior; RCUAI= rendimiento de la cuajada inferior, RCUAS= rendimiento de la cuajada superior; pHI= pH inferior; pHS= pH superior) y los índices colorimétricos (**círculos azules** donde L1= baja luminosidad, L2= alta luminosidad; A1= índice de rojo bajo (verde), A2= índice de rojo alto (rojo); B1= índice de amarillo bajo (azul), B2= índice de amarillo alto (amarillo)) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.

Así, por una parte, se observa una clara relación entre luminosidad baja (**L1**) con los niveles superiores de rendimiento de cuajada (**RCUAS**), dureza a sesenta minutos (**A60S**) y pH más básico (**pHS**) y, en sentido contrario, entre luminosidad alta (**L2**) con los niveles inferiores de rendimiento de cuajada (**RCUAI**), dureza a sesenta minutos (**A60I**) y pH más ácido (**pHI**).

Por otro lado, se observa también una clara relación entre los otros dos índices de cromaticidad, índice de rojo (A) y de amarillo (B): entre **A1** con **B2**, y en sentido contrario, entre **A2** con **B1**. Asimismo, **A1** y **B2** se sitúan en cierta relación con los niveles superiores de tiempo de coagulación (**RCTS**) y velocidad de endurecimiento de la cuajada (**K20S**), y el nivel inferior de la dureza del coágulo

a 30 minutos (**A30I**); en sentido contrario **A2** y **B1** tienen cierta relación con los niveles inferiores de tiempo de coagulación (**RCTI**) y velocidad de endurecimiento de la cuaja (**K20I**), y el nivel superior de la dureza del coágulo a 30 minutos (**A30S**).

Por último, se ha estudiado la **asociación de los parámetros tecnológicos y los grupos microbianos representantes** determinados en el **Apartado 8.4.1.** de este estudio: mesófilos totales, estafilococos totales y esporas butíricas, así como del recuento de células somáticas.

La **Figura 59A** muestra la asociación entre las variables categóricas microbiológicas, el recuento de células somáticas y el pH, y las fijadas para **el tiempo de coagulación (RCT)**. La dimensión 1, que explica un 22,55% de la varianza total, permite diferenciar las categorías de recuentos de mesófilos y estafilococos, así como de pH. Por su parte, en la dimensión 2 (21,17% de la varianza) se diferencian las categorías de recuento de células somáticas, tiempo de coagulación y esporas butíricas. Se observa la relación entre la categoría inferior del tiempo de coagulación (**RCTI**) con los recuentos de mesófilos altos (**mesoS**) y el pH más ácido (**pH1**), así como la relación entre la categoría superior del tiempo de coagulación (**RCTS**) con los recuentos de mesófilos bajos (**mesoI**) y el pH más básico (**pH2**). Por otra parte, se distingue la asociación entre **RCTI** y **babi**, así como entre **RCTS** y **babS**. En ambas asociaciones, se corroboran las observaciones del estudio de correlaciones del **Apartado 9.2.1.**

Asimismo, se observa la relación de las categorías de altos recuentos de estafilococos (**scS**) y de células somáticas (**rcsS**), con los superiores recuentos de esporas butíricas (**babS**), tal como también se expone en el **Apartado 8.4.1.** de correlaciones de este estudio, indicando que las ganaderías con una deficiente situación frente a infecciones intramamarias también tienen una higiene deficiente de la explotación, la cual se ha asociado con una mayor nivel de contaminación de esporas butíricas (Arias y cols., 2013).

La asociación entre las variables categóricas para **la velocidad de endurecimiento de la cuajada (K<sub>20</sub>)** y las variables microbiológicas representantes, el recuento de células somáticas y el pH se expone en la **Figura 59B**. La dimensión 1 (23,19% de la varianza total), permite diferenciar las categorías de recuentos de mesófilos y pH. La dimensión 2, que explica el 21,36% de la varianza permite diferenciar las categorías de K<sub>20</sub> y los recuentos de estafilococos, esporas butíricas y células somáticas. Se distingue, al igual que para RCT, la relación entre una velocidad de endurecimiento inferior (**K20I**) con recuentos de mesófilos altos (**mesoS**) y pH más ácidos (**pH1**), y, por el contrario, la relación entre una velocidad de endurecimiento superior (**K20S**) con recuentos de mesófilos bajos (**mesoI**) y pH más básicos (**pH2**). Asimismo, se comprueba la asociación entre **K20I** y **babi**, y entre **K20S** y **babS**, ya observada en el estudio de correlaciones del **Apartado 9.2.1.**

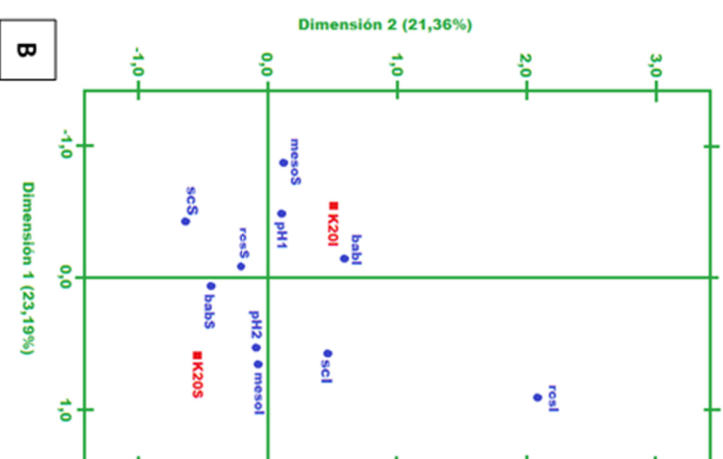
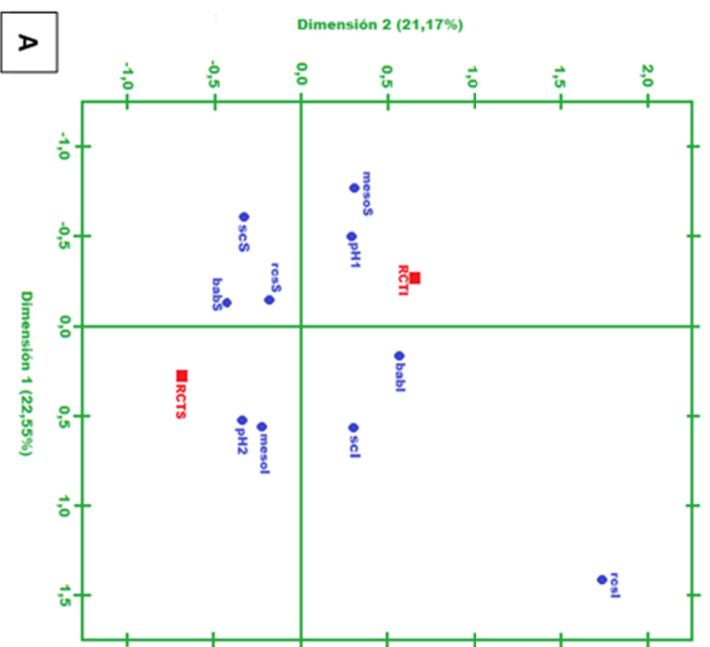


Figura 59. Análisis de correspondencias entre las categorías de tiempo de coagulación inferior, RCTI= tiempo de coagulación superior) y velocidad de endurecimiento (B: **cuadrados rojos** donde K20I= velocidad de endurecimiento inferior, K20S= velocidad de endurecimiento superior) con el pH, las características higiénico-sanitarias (**círculos azules** donde pH1= pH inferior, pH2= pH superior, mesoS= mesófilos inferior, mesoI= mesófilos superior, babs= esporas butíricas inferior, babsS= esporas butíricas superior, scli= estafilococos totales inferior, scliS= estafilococos totales superior, rcsI= recuento de células somáticas inferior y rcsS= recuento de células somáticas superior) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.

La asociación entre las variables categóricas para **la dureza del coágulo a los 30 minutos ( $A_{30}$ )** y las variables microbiológicas representantes, el recuento de células somáticas y el pH se expone en la **Figura 60A**. La dimensión 1 (22,48 % de la varianza total), permite diferenciar las categorías de recuentos de mesófilos, estafilococos, células somáticas y de pH. La dimensión 2 por su parte, que explica el 20,89% de la varianza total, permite diferenciar las categorías de  $A_{30}$  y esporas butíricas. En esta gráfica se asocia, por un lado, las cuajadas de mayor consistencia (**A30S**) con los recuentos superiores de mesófilos (**mesoS**) y pH más ácidos (**pH1**) y, por otro lado, las cuajadas de menor consistencia (**A30I**) con los recuentos inferiores de mesófilos (**mesoI**) y pH más básicos (**pH2**).

También se ha realizado el estudio de correspondencias para las categorías de **dureza del coágulo a los 60 minutos ( $A_{60}$ )** y de los recuentos de los grupos microbianos representantes y de células somáticas, así como del pH (**Figura 60B**). La dimensión 1 explica el 22,59% de la varianza total, y permite la diferenciación de las categorías de los recuentos de mesófilos, estafilococos y células somáticas, mientras que la dimensión 2 (19,19% de la varianza total) permite diferenciar las categorías de  $A_{60}$ , esporas butíricas, recuento de células somáticas y pH. En este caso se observa en estas dimensiones una disposición distinta de los puntos  $A_{60}$  y pH, a la que se observa entre  $A_{30}$  y pH en la **Figura 60A**.

Por último, en la **Figura 60C** se observa la asociación entre las variables categóricas de los grupos microbiológicos representantes, del recuento de células somáticas, del pH, y del rendimiento de la cuajada (RCUA). La dimensión 1 (26,37% de la varianza total), permite diferenciar las categorías de RCUA, pH y recuento de estafilococos, y la dimensión 2 (20,51% de la varianza total) diferencia las categorías de los recuentos de mesófilos, esporas butíricas y células somáticas. Se observa una clara asociación entre rendimientos de cuajada altos (**RCUAS**) y leche de pH básico (**pH2**), así como con rendimientos de cuajada bajos (**RCUAI**) y leche de pH ácido (**pH1**). Se distingue también la relación entre los recuentos altos de estafilococos (**sCS**) y de células somáticas asociadas (**rCS**), y la falta de relación entre **scl** y **rCS**, tal como se observa en el resto de análisis de correspondencias, y en la línea de las correlaciones obtenidas en el **Apartado 9.2.1**, lo que indica la capacidad discriminante del recuento celular como indicador de infecciones intramamarias.

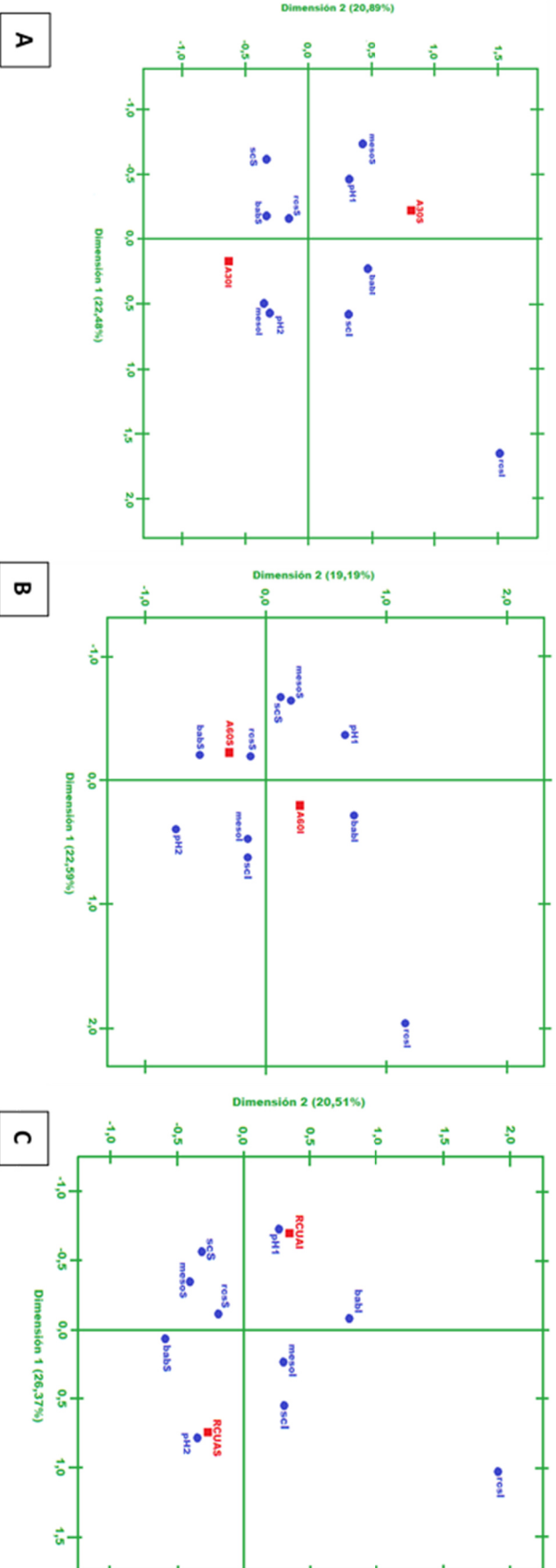


Figura 60. Análisis de correspondencias entre las categorías de dureza del coágulo a los 30 minutos (A: **cuadrados rojos** donde A30I= dureza del coágulo a los 30 minutos inferior, A30S= dureza del coágulo a los 30 minutos superior), dureza del coágulo a los 60 minutos (B: **cuadrados rojos** donde A60I= dureza del coágulo a los 60 minutos inferior, A60S= dureza del coágulo a los 60 minutos) y rendimiento de la cuajada (C: **cuadrados rojos** donde RCUAI= rendimiento de la cuajada inferior, RCUAS= rendimiento de la cuajada superior) y el pH, las características higiénico-sanitarias (**círculos azules** donde pH1= pH inferior, pH2= pH superior, mesoS= mesófilos inferior, mesoS= mesófilos superior, babS= esporas butíricas inferior, babS= esporas butíricas superior, scl= estafilococos totales inferior, rcsS= recuento de células somáticas inferior y rcsS= recuento de células somáticas superior) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.



**RESUMEN****🐄 Análisis de correspondencias entre los parámetros tecnológicos y las características de calidad de la leche de tanque:**

- Una mayor riqueza de la leche en cuanto a grasa, proteína y caseína da lugar a la obtención de cuajadas más rápidas y de mayor consistencia.
- Se comprueba la relación entre el tiempo de coagulación (RCT) y la velocidad de endurecimiento de la cuajada ( $K_{20}$ ) con el recuento de mesófilos totales y el pH: cuajadas de formación más rápida se relacionan con mayores recuentos de mesófilos y pH ácido, y cuajadas de formación más lenta se relacionan con menores recuentos de mesófilos y pH básico.
- El rendimiento de la cuajada también mantiene una clara relación con el pH: rendimientos bajos se relacionan con pH ácido y rendimientos altos con pH básico.

**SUMMARY****🐄 Multiple correspondence analysis between technological parameters and bulk-tank milk quality characteristics:**

- Higher milk richness in fat, total protein and total casein results in faster and more consistent curds.
- It is verified the relationship between rennet clotting time (RCT) and curd firming time ( $K_{20}$ ) with total bacterial count and pH: faster forming curds are associated with higher total bacterial count and acidic pH, and slower forming curds are associated with lower total bacterial count and basic pH.
- The curd yield also maintains a clear relationship with pH: low curd yields are related to acidic pH and high curd yields with basic pH.

### 9.3. FACTORES DE VARIACIÓN QUE AFECTAN A LAS DISTINTAS CARACTERÍSTICAS TECNOLÓGICAS DE LECHE DE TANQUE DE LAS GANADERÍAS DE RAZA OVINA MANCHEGA.

El **Modelo Estadístico V** ha sido utilizado para determinar la influencia de la estación del año y de las características físico-químicas (grasa, proteína total, caseína total, lactosa, urea y pH) e higiéno-sanitarias (nivel del recuento de mesófilos, termodúricos, psicrotrofos, *Pseudomonas* spp., coliformes totales, bacterias ácido lácticas, cocos gram-positivos catalasa-negativos, esporas butíricas y estafilococos totales, así como el nivel del recuento de células somáticas) sobre las características tecnológicas de la leche de tanque de las ganaderías de oveja Manchega (**Tabla 28**).

Los resultados medios de los parámetros tecnológicos respecto a la estación y las características físico-químicas se muestran en la **Tabla 29**, y respecto a las características higiéno-sanitarias se muestran en la **Tabla 30**.

#### Estación del año.

El factor **estación del año** de toma de muestra de la leche de tanque afecta significativamente ( $p < 0,05$ ) (**Tabla 28**) a todas las características tecnológicas. Destaca la mayor varianza explicada para el tiempo de coagulación (15,45%), así como la diferencia de varianza entre la dureza de la cuajada a 30 minutos y a 60 minutos (9,95 vs 2,90%).

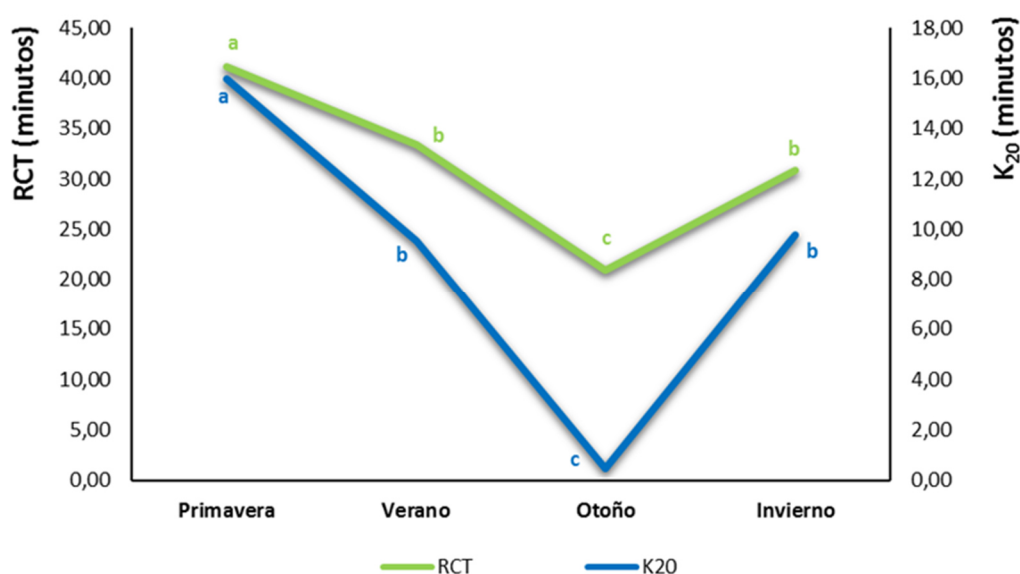


Figura 61. Valores medios para el tiempo de coagulación (RCT) y velocidad de endurecimiento de la cuajada (K<sub>20</sub>) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega según la estación del año (superíndices distintos a, b, c:  $p < 0,05$ ).

En la **Tabla 29** y **Figura 61** se observa que el **tiempo de coagulación (RCT)** es significativamente superior en primavera (RCT=41,20 minutos) respecto al resto de estaciones del año, presentando el otoño el valor más bajo (RCT=20,93 minutos), prácticamente la mitad del tiempo de coagulación de primavera. Por el contrario, **Todaro y cols. (2014)** obtienen los tiempos de coagulación más bajos de

leche de tanque de oveja en primavera (RCT=20,11 minutos) y los más altos en invierno (RCT= 23,29 minutos). Por su parte, Bittante y cols., (2015), en leche individual de vaca, obtiene los resultados más altos en los meses de invierno y primavera (RCT=20,50 minutos), tendencia similar a la observada en este estudio. En cualquier caso, en nuestro estudio las diferencias en función de la estación del año del tiempo de coagulación son mucho más elevadas que las de los estudios citados.

**Tabla 28. Valor de F (% de la varianza explicada) y nivel de significación del efecto de la estación del año y del nivel de las características físico-químicas e higiénico-sanitarias sobre las características tecnológicas de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.**

FACTORES DE VARIACIÓN <sup>1</sup>	PARÁMETROS <sup>2</sup>				
	RCT	K20	A30	A60	RCUA
Estación	26,16 (15,45)***	8,82 (6,86)***	15,22 (9,95)***	3,43 (2,90)*	15,24 (7,21)***
G	0,78 (0,21) <sup>NS</sup>	0,36 (0,28) <sup>NS</sup>	0,71 (0,46) <sup>NS</sup>	0,62 (0,52) <sup>NS</sup>	10,89 (5,15)***
Pt	0,92 (0,54) <sup>NS</sup>	1,29 (1,00) <sup>NS</sup>	0,27 (0,18) <sup>NS</sup>	1,77 (1,49) <sup>NS</sup>	2,82 (1,34)*
Ct	1,32 (0,78) <sup>NS</sup>	1,94 (1,51) <sup>NS</sup>	1,24 (0,81) <sup>NS</sup>	1,25 (1,05) <sup>NS</sup>	0,52 (0,25) <sup>NS</sup>
La	1,08 (0,64) <sup>NS</sup>	0,83 (0,65) <sup>NS</sup>	0,64 (0,42) <sup>NS</sup>	0,69 (0,58) <sup>NS</sup>	1,94 (0,92) <sup>NS</sup>
U	1,35 (0,80) <sup>NS</sup>	0,58 (0,45) <sup>NS</sup>	0,73 (0,48) <sup>NS</sup>	0,48 (0,41) <sup>NS</sup>	2,33 (1,10) <sup>NS</sup>
pH	7,63 (4,51)***	10,64 (8,28)***	3,01 (1,98)*	1,54 (1,30) <sup>NS</sup>	0,25 (0,12) <sup>NS</sup>
MESO	2,52 (1,49) <sup>NS</sup>	1,91 (1,49) <sup>NS</sup>	2,77 (1,81)*	3,47 (2,93)*	0,36 (0,17) <sup>NS</sup>
TERMO	1,28 (0,76) <sup>NS</sup>	1,74 (1,35) <sup>NS</sup>	0,55 (0,36) <sup>NS</sup>	0,84 (0,71) <sup>NS</sup>	0,11 (0,05) <sup>NS</sup>
PSICRO	0,59 (0,35) <sup>NS</sup>	0,24 (0,19) <sup>NS</sup>	0,76 (0,49) <sup>NS</sup>	0,56 (0,48) <sup>NS</sup>	0,91 (0,43) <sup>NS</sup>
PSEUDO	0,97 (0,58) <sup>NS</sup>	0,76 (0,59) <sup>NS</sup>	2,21 (1,44) <sup>NS</sup>	1,36 (1,15) <sup>NS</sup>	2,17 (1,03) <sup>NS</sup>
COLIT	1,52 (0,90) <sup>NS</sup>	1,37 (1,06) <sup>NS</sup>	1,26 (0,82) <sup>NS</sup>	1,48 (1,25) <sup>NS</sup>	0,74 (0,35) <sup>NS</sup>
BAL	1,91 (1,13) <sup>NS</sup>	0,64 (0,50) <sup>NS</sup>	1,82 (1,19) <sup>NS</sup>	0,92 (0,78) <sup>NS</sup>	0,81 (0,38) <sup>NS</sup>
CGPCN	0,43 (0,25) <sup>NS</sup>	0,72 (0,56) <sup>NS</sup>	0,97 (0,63) <sup>NS</sup>	0,78 (0,66) <sup>NS</sup>	2,50 (1,18) <sup>NS</sup>
BAB	1,42 (0,84) <sup>NS</sup>	2,34 (1,82) <sup>NS</sup>	1,83 (1,20) <sup>NS</sup>	3,80 (3,21)*	1,41 (0,67) <sup>NS</sup>
SC	1,34 (0,79) <sup>NS</sup>	0,35 (0,28) <sup>NS</sup>	1,61 (1,05) <sup>NS</sup>	2,89 (2,44)*	2,89 (1,37)*
RCST	0,96 (0,57) <sup>NS</sup>	1,64 (1,27) <sup>NS</sup>	0,72 (0,47) <sup>NS</sup>	1,18 (1,00) <sup>NS</sup>	2,27 (1,07) <sup>NS</sup>

<sup>1</sup>G=Grasa, Pt=Proteína total, Ct=Caseína total, La=Lactosa, U=Urea, MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas spp.*, COLIT= coliformes totales, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB= esporas butíricas, SC= estafilococos totales, RCST= recuento de células somáticas de leche de tanque, <sup>2</sup>RCT= tiempo de coagulación, K<sub>20</sub>= velocidad de endurecimiento, A<sub>30</sub>= dureza del coágulo a los 30 minutos, A<sub>60</sub>= dureza del coágulo a los 60 minutos, RCUA= rendimiento de la cuajada; \*\*\*p< 0,001, \*\*p<0,01, \*p<0,05, <sup>NS</sup>p>0,05.

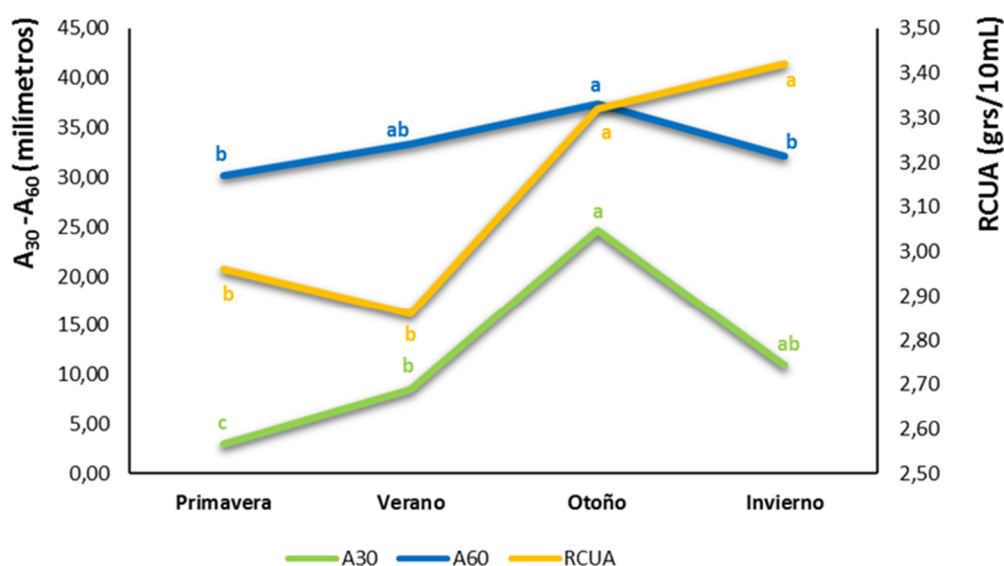
**Tabla 29. Media de mínimos cuadrados de las características tecnológicas según la estación y del nivel de composición físico-química de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.**

CARACTERÍSTICAS TECNOLÓGICAS					
	RCT	K20	A30	A60	RCUA
<b>Estación</b>					
Primavera	41,20±1,55 <sup>a</sup>	15,97±2,11 <sup>a</sup>	3,02±2,32 <sup>c</sup>	30,22±1,67 <sup>b</sup>	2,96±0,06 <sup>b</sup>
Verano	33,38±1,47 <sup>b</sup>	9,55±1,99 <sup>b</sup>	8,50±2,18 <sup>b</sup>	33,34±1,58 <sup>ab</sup>	2,86±0,06 <sup>b</sup>
Otoño	20,93±1,44 <sup>c</sup>	0,48±1,96 <sup>c</sup>	24,63±2,15 <sup>a</sup>	37,37±1,55 <sup>a</sup>	3,32±0,06 <sup>a</sup>
Invierno	30,81±1,34 <sup>b</sup>	9,76±1,81 <sup>b</sup>	10,93±1,99 <sup>ab</sup>	32,11±1,44 <sup>b</sup>	3,42±0,06 <sup>a</sup>
<b>Grasa</b>					
G1 < 7,32	31,15±1,25 <sup>a</sup>	9,15±1,70 <sup>a</sup>	13,34±1,85 <sup>a</sup>	32,32±1,34 <sup>a</sup>	2,92±0,05 <sup>b</sup>
G2: 7,32-7,79	32,33±1,26 <sup>a</sup>	9,05±1,71 <sup>a</sup>	9,83±1,89 <sup>a</sup>	33,48±1,36 <sup>a</sup>	3,16±0,05 <sup>ab</sup>
G3: 7,80-8,35	30,84±1,21 <sup>a</sup>	10,04±1,64 <sup>a</sup>	11,98±1,80 <sup>a</sup>	32,50±1,30 <sup>a</sup>	3,09±0,05 <sup>ab</sup>
G4 > 8,35	32,01±1,42 <sup>a</sup>	7,53±1,92 <sup>a</sup>	11,92±2,12 <sup>a</sup>	34,75±1,52 <sup>a</sup>	3,38±0,06 <sup>a</sup>
<b>Proteína total</b>					
Pt1 < 5,70	29,75±1,99 <sup>a</sup>	10,89±2,71 <sup>a</sup>	12,07±2,97 <sup>a</sup>	29,16±2,15 <sup>a</sup>	2,93±0,08 <sup>b</sup>
Pt2: 5,70-5,96	29,64±1,54 <sup>a</sup>	12,29±2,09 <sup>a</sup>	13,02±2,30 <sup>a</sup>	33,77±1,65 <sup>a</sup>	3,04±0,06 <sup>b</sup>
Pt3: 5,97-6,34	32,04±1,45 <sup>a</sup>	6,29±1,97 <sup>a</sup>	12,44±2,17 <sup>a</sup>	33,29±1,56 <sup>a</sup>	3,25±0,06 <sup>a</sup>
Pt4 > 6,34	34,91±2,21 <sup>a</sup>	6,29±3,00 <sup>a</sup>	9,53±3,30 <sup>a</sup>	36,83±2,38 <sup>a</sup>	3,33±0,09 <sup>a</sup>
<b>Caseína total</b>					
Ct1 < 4,55	34,18±2,05 <sup>a</sup>	9,70±2,78 <sup>a</sup>	8,71±3,05 <sup>a</sup>	33,55±2,20 <sup>a</sup>	3,16±0,08 <sup>a</sup>
Ct2: 4,55-4,76	33,83±1,45 <sup>a</sup>	4,90±1,96 <sup>a</sup>	8,22±2,16 <sup>a</sup>	34,92±1,55 <sup>a</sup>	3,15±0,06 <sup>a</sup>
Ct3: 4,77-5,04	30,31±1,50 <sup>a</sup>	10,68±2,03 <sup>a</sup>	13,48±2,24 <sup>a</sup>	30,86±1,61 <sup>a</sup>	3,07±0,06 <sup>a</sup>
Ct4 > 5,04	28,01±2,19 <sup>a</sup>	10,48±2,97 <sup>a</sup>	16,66±3,27 <sup>a</sup>	33,71±2,35 <sup>a</sup>	3,17±0,09 <sup>a</sup>
<b>Lactosa</b>					
La1 < 4,48	33,96±1,48 <sup>a</sup>	11,33±2,00 <sup>a</sup>	8,99±2,14 <sup>a</sup>	31,72±1,59 <sup>a</sup>	3,02±0,06 <sup>b</sup>
La2: 4,48-4,64	31,54±1,15 <sup>a</sup>	9,88±1,56 <sup>a</sup>	12,25±1,72 <sup>a</sup>	32,36±1,23 <sup>a</sup>	3,11±0,05 <sup>ab</sup>
La3: 4,65-4,79	31,08±1,21 <sup>a</sup>	8,06±1,64 <sup>a</sup>	12,65±1,81 <sup>a</sup>	33,98±1,30 <sup>a</sup>	3,17±0,05 <sup>ab</sup>
La4 > 4,79	29,75±1,45 <sup>a</sup>	6,49±1,97 <sup>a</sup>	13,18±2,16 <sup>a</sup>	34,99±1,56 <sup>a</sup>	3,26±0,06 <sup>a</sup>
<b>Urea</b>					
U1 < 398	31,29±1,15 <sup>a</sup>	8,46±1,57 <sup>a</sup>	11,96±1,71 <sup>a</sup>	32,21±1,24 <sup>a</sup>	3,22±0,05 <sup>a</sup>
U2: 398-478	33,57±1,19 <sup>a</sup>	10,77±1,62 <sup>a</sup>	9,50±1,78 <sup>a</sup>	32,79±1,28 <sup>a</sup>	3,11±0,05 <sup>ab</sup>
U3: 479-567	31,34±1,23 <sup>a</sup>	8,52±1,67 <sup>a</sup>	12,88±1,82 <sup>a</sup>	33,45±1,32 <sup>a</sup>	3,05±0,05 <sup>b</sup>
U4 > 567	30,14±1,34 <sup>a</sup>	8,01±1,81 <sup>a</sup>	12,74±2,00 <sup>a</sup>	34,61±1,43 <sup>a</sup>	3,18±0,06 <sup>ab</sup>
<b>pH</b>					
pH1 < 6,56	26,08±1,39 <sup>c</sup>	2,70±1,88 <sup>c</sup>	15,76±2,03 <sup>a</sup>	35,58±1,49 <sup>a</sup>	3,17±0,06 <sup>a</sup>
pH2: 6,56-6,63	30,67±1,08 <sup>b</sup>	7,54±1,46 <sup>b</sup>	12,72±1,61 <sup>a</sup>	34,13±1,16 <sup>ab</sup>	3,11±0,05 <sup>a</sup>
pH3: 6,63-6,69	34,76±1,28 <sup>a</sup>	8,59±1,74 <sup>b</sup>	7,04±1,92 <sup>b</sup>	31,19±1,38 <sup>b</sup>	3,13±0,05 <sup>a</sup>
pH4 > 6,69	34,82±1,23 <sup>a</sup>	16,94±1,67 <sup>a</sup>	11,54±1,84 <sup>ab</sup>	32,15±1,33 <sup>ab</sup>	3,14±0,05 <sup>a</sup>

G=% Grasa, Pt=% Proteína total, Ct=% Caseína total, La=% Lactosa, U=Urea (mg/L), RCT= tiempo de coagulación, K<sub>20</sub>= velocidad de endurecimiento, A<sub>30</sub>= dureza del coágulo a los 30 minutos, A<sub>60</sub>= dureza del coágulo a los 60 minutos, RCUA= rendimiento de la cuajada (RCT y K<sub>20</sub>= minutos, A<sub>30</sub> y A<sub>60</sub>= milímetros, RCUA= grs/10 mL); **superíndices distintos a, b, c: p<0,05**

La **velocidad de endurecimiento de la cuajada** es significativamente muy superior en primavera ( $K_{20}=15,97$  minutos) que en otoño ( $K_{20}=0,48$  minutos), obteniéndose valores similares en verano ( $K_{20}=9,55$  minutos) e invierno ( $K_{20}=9,76$  minutos) (**Tabla 29 y Figura 61**). Así, son muy llamativas las diferencias entre estaciones para este parámetro llegando a existir una diferencia de 15,49 minutos (33 veces superior) entre la leche de otoño y la de primavera. **Todaro y cols. (2014)** señala niveles inferiores para  $K_{20}$  en primavera e invierno ( $K_{20}= 1,66$  y  $1,79$  minutos, respectivamente), mucho menores a los obtenidos en nuestro estudio. La diferencia entre estudios podría deberse al tipo de sistema productivo, más extensivo y dependiente de la disponibilidad de pastos en el caso de **Todaro y cols. (2014)**.

Respecto a la **dureza del coágulo a los 30 minutos** (**Tabla 29 y Figura 62**), la tendencia es contraria a los anteriores, siendo superior en otoño ( $A_{30}=24,63$  mm) que en el resto del año, sobre todo frente a la dureza obtenida en primavera ( $A_{30}=3,02$  mm). Por su parte, la **dureza del coágulo a los 60 minutos** tiene una tendencia similar, siendo  $A_{60}$  superior en otoño ( $A_{60}=37,37$  mm) que en primavera e invierno. Al comparar estos resultados con los de otros estudios de leche de tanque de oveja, se comprueban ciertas diferencias tal y como ocurre con los anteriores parámetros; por ejemplo, **Todaro y cols., (2014)**, obtienen durezas mayores en primavera y otoño, posiblemente relacionadas con el propio sistema de producción que condiciona la calidad de la leche. Por su parte, **Zendri y cols., (2017)**, indican una tendencia similar a la de nuestro estudio, con un incremento en los valores de dureza a 30 y 45 minutos entre junio y octubre (verano y otoño) en leche individual de vaca.



**Figura 62.** Valores medios para la dureza del coágulo a los 30 minutos ( $A_{30}$ ), dureza del coágulo a los 60 minutos ( $A_{60}$ ) y rendimiento de la cuajada (RCUA) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega según la estación del año (superíndices distintos a, b, c :  $p<0,05$ ).

Los resultados del **rendimiento en cuajada** en función de la estación del año se muestran en la **Tabla 29 y Figura 62**. En invierno y en otoño se obtienen niveles significativamente superiores (3,42 y 3,32

grs/10 mL, respectivamente) que en primavera y verano (2,96 y 2,86 grs/10 mL, respectivamente). Los mayores rendimientos obtenidos en invierno y otoño se relacionarían con los mayores niveles de los principales componentes de la leche, como también ha sido expuesto en diversos estudios (Banks, 2007; Jaramillo y cols., 2008).

En resumen, los resultados indican que las coagulaciones más rápidas y de mayor dureza se obtienen en otoño, coincidiendo con los mayores porcentajes de grasa y caseína total, y el menor porcentaje de lactosa de la leche de tanque. Asimismo, en otoño se obtienen altos rendimientos en cuajada, con la menor relación  $RCT/A_{60}=0,54$ , indicativo una alta eficiencia tecnológica conforme a lo indicado por Caballero-Villalobos y cols., (2018a).

#### Características físico-químicas.

A continuación, se presentan los resultados estadísticamente significativos del efecto del nivel de los componentes físico-químicos sobre los parámetros tecnológicos de la leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega (Tabla 28).

El **nivel de porcentaje en grasa (G)** de la leche de tanque afecta significativamente ( $p<0,001$ ) al rendimiento de la cuajada. El rendimiento de la cuajada es significativamente superior ( $RCUA=3,38$  grs/10 mL) para el nivel  $G4>8,35\%$ , frente al menor rendimiento ( $RCUA=2,92$  grs/10mL) observado para el nivel  $G1<7,32\%$  (Tabla 29). Vacca y cols. (2019), señalan una tendencia similar a la de nuestro estudio, con un paulatino incremento del rendimiento quesero conforme aumenta el porcentaje de grasa desde 5,14% hasta 8,13% en leche individual de oveja.

De igual forma, **el nivel de proteína total (Pt)** de la leche de tanque afecta al rendimiento de la cuajada, aunque su nivel de significación es menor que para el nivel de grasa ( $p<0,05$ ); los menores valores para el rendimiento de la cuajada (Tabla 29) se corresponden con niveles de proteína inferiores a 5,96% (Pt1 y Pt2), incrementándose significativamente el rendimiento conforme se aumenta el nivel proteico de la leche. El efecto que posee el contenido en proteína de la leche sobre el incremento del rendimiento de la cuajada también se ha comentado en otros estudios realizados en leche de vaca (Guinee, 2003) y de oveja (Jaramillo y cols., 2008).

El **nivel pH** tiene un efecto significativo para el tiempo de coagulación y la velocidad de endurecimiento de la cuajada ( $p<0,001$ ), así como para la dureza de la cuajada a los 30 minutos ( $A_{30}$ ) ( $p<0,05$ ). El pH es uno de los parámetros que más influye en la estabilidad de las micelas de caseína y por lo tanto sobre la coagulación, algo que ya evidenciaron autores como Bencini (2002) y Pirisi y cols. (2007). En la Figura 63 se observa que el tiempo de coagulación presenta un valor similar para niveles pH3 y pH4 ( $pH>6,63$ ); cuando la leche se acidifica en el caso de los niveles pH1 y pH2, el tiempo de coagulación disminuye, correspondiendo el menor valor  $RCT=26,08$  minutos para el nivel de  $pH1<6,56$ . Por otra parte,  $K_{20}$  tiene una tendencia similar, aunque en este caso existe una gran

diferencia entre los niveles extremos de pH; el nivel de pH4>6,69 presenta un valor medio de  $K_{20}$ =16,94 minutos, un 84% superior al nivel de pH1<6,56 que tiene un valor  $K_{20}$ =2,70 minutos. Estos resultados están en la línea de los mencionados por Pazzola y cols. (2018) quienes señalan un incremento en los tiempos de coagulación cuando las muestras de leche individual de oveja poseen un pH más básico.

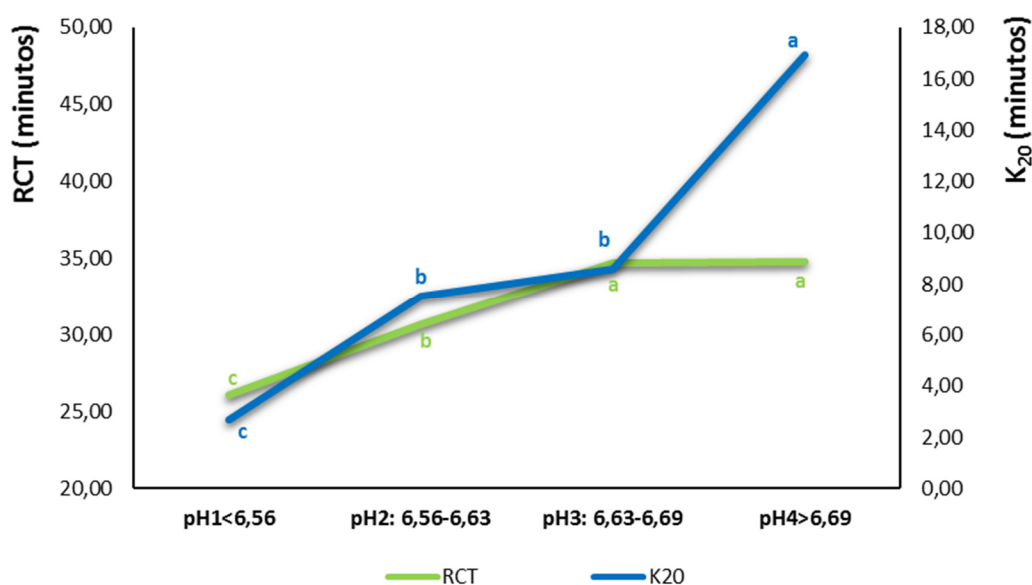


Figura 63. Valores medios para el tiempo de coagulación (RCT) y velocidad de endurecimiento de la cuajada ( $K_{20}$ ) según el nivel de pH de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega (superíndices distintos a, b, c:  $p<0,05$ ).

Respecto a la dureza de la cuajada, las diferencias entre los distintos niveles de pH no son tan evidentes, aunque se aprecia un valor ligeramente mayor de dureza para el nivel de pH1<6,56 (Figura 64). Lucey (2002), en una revisión sobre la gelificación de las proteínas de la leche, señala que el descenso del pH de la leche va acompañado de un incremento rápido de la dureza de la cuajada; no obstante, añade que existen muchos otros factores que pueden modificar esta fase (reducción de la repulsión electrostática entre las micelas, incremento de la actividad enzimática, etc.), que podrían explicar las diferencias entre estudios.

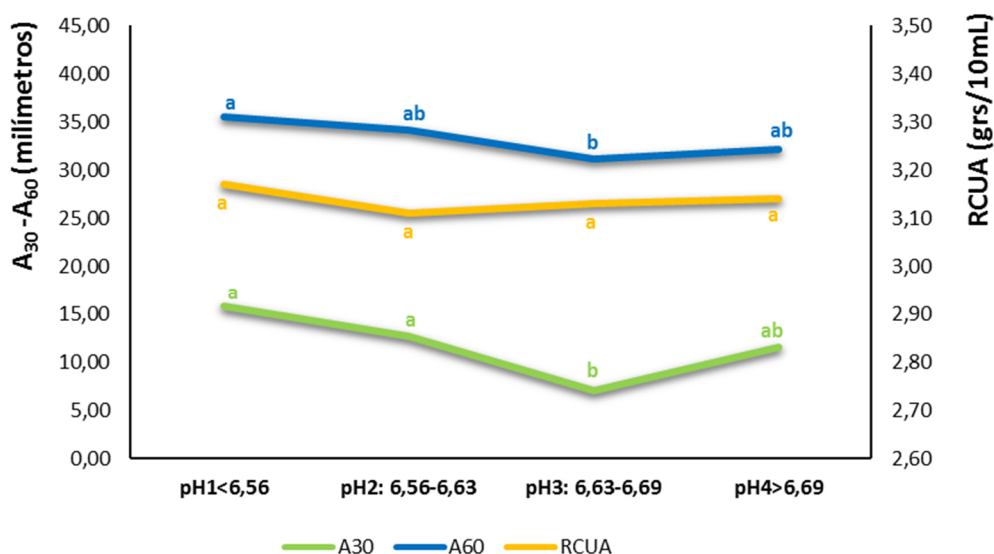


Figura 64. Valores medios para la dureza del coágulo a los 30 minutos ( $A_{30}$ ), dureza del coágulo a los 60 minutos ( $A_{60}$ ) y rendimiento de la cuajada (RCUA) según el nivel de pH de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega (superíndices distintos a, b:  $p < 0,05$ ).

#### Características higiénico-sanitarias.

A continuación, se presentan los resultados estadísticamente significativos del efecto del nivel de contaminación microbiana sobre los parámetros tecnológicos de la leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega (Tabla 28).

El **nivel del recuento de MESO** de la leche de tanque afecta significativamente ( $p < 0,05$ ) a la dureza del coágulo a los 30 y 60 minutos (Tabla 28). En la Tabla 30, se observan valores de dureza a los 30 minutos ( $A_{30}$ =18,27 minutos) y a 60 minutos ( $A_{60}$ =37,28 minutos) significativamente superiores para el nivel MESO<sub>4</sub>>6,18 log ufc/mL respecto a niveles inferiores de MESO. Por el contrario, el tiempo de coagulación y la velocidad de endurecimiento de la cuajada disminuyen cuando el nivel de MESO se incrementa. Estos resultados indican que la contaminación microbiana tiene una consecuencia directa sobre el proceso de coagulación de la leche, mediada por una transformación de la lactosa en ácido láctico, que provoca el descenso del pH.

El **nivel de esporas butíricas** muestra un efecto significativo ( $p < 0,05$ ) sobre la dureza del coágulo a los 60 minutos ( $A_{60}$ ) (Tabla 28). El valor de  $A_{60}$  disminuye significativamente conforme aumenta el nivel de BAB en leche de tanque (Tabla 30), desde un valor  $A_{60}$ =35,00 milímetros para el nivel BAB<sub>1</sub><2,96 log esporas/L hasta el valor  $A_{60}$ =29,71 milímetros para el nivel BAB<sub>4</sub>>3,63 log esporas/L. Para el resto de características tecnológicas no se evidencian tendencias claras respecto a BAB. Destaca la mayor velocidad de endurecimiento de la cuajada ( $K_{20}$ ) para el nivel BAB<sub>4</sub>>3,63 log esporas/L. Estos resultados indican una posible influencia del recuento de esporas butíricas en el



proceso de coagulación de la leche, y no sólo en la aparición de “hinchazón tardía” durante el proceso de maduración.

El **nivel del recuento de estafilococos totales** afecta significativamente ( $p < 0,05$ ) a la dureza de la cuajada a los 60 minutos y al rendimiento de la cuajada (**Tabla 28**). En la **Tabla 30** se observan diferencias en los valores de  $A_{60}$ , según el nivel de recuento de estafilococos, aunque la tendencia no es clara. Respecto al rendimiento en cuajada (RCUA) se observan diferencias significativas entre los distintos niveles de estafilococos, con una tendencia a disminuir RCUA conforme aumenta el nivel de contaminación.

**Tabla 30. Media de mínimos cuadrados de las características tecnológicas según los diferentes niveles de las características higiénico-sanitarias de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.**

CARACTERÍSTICAS TECNOLÓGICAS					
	RCT	K20	A30	A60	RCUA
<b>MESO</b>					
MESO1<5,15	34,03±1,55 <sup>a</sup>	10,87±2,11 <sup>ab</sup>	8,73±2,30 <sup>b</sup>	28,71±1,67 <sup>b</sup>	3,13±0,06 <sup>a</sup>
MESO2: 5,15-5,57	33,39±1,33 <sup>a</sup>	12,37±1,80 <sup>a</sup>	9,90±1,99 <sup>b</sup>	31,88±1,43 <sup>b</sup>	3,09±0,06 <sup>a</sup>
MESO3: 5,58-6,18	31,49±1,30 <sup>a</sup>	7,58±1,76 <sup>ab</sup>	10,76±1,92 <sup>b</sup>	35,18±1,39 <sup>ab</sup>	3,15±0,05 <sup>a</sup>
MESO4>6,18	27,42±1,59 <sup>b</sup>	4,94±2,15 <sup>b</sup>	18,27±2,36 <sup>a</sup>	37,28±1,70 <sup>a</sup>	3,19±0,07 <sup>a</sup>
<b>TERMO</b>					
TERMO1<2,69	29,71±1,26 <sup>a</sup>	5,95±1,71 <sup>b</sup>	13,84±1,89 <sup>a</sup>	34,85±1,36 <sup>a</sup>	3,14±0,05 <sup>a</sup>
TERMO2: 2,69-3,14	31,03±1,24 <sup>a</sup>	8,40±1,68 <sup>ab</sup>	10,84±1,82 <sup>a</sup>	33,91±1,33 <sup>a</sup>	3,14±0,05 <sup>a</sup>
TERMO3: 3,15-3,73	32,12±1,12 <sup>a</sup>	9,34±1,52 <sup>ab</sup>	11,58±1,67 <sup>a</sup>	32,47±1,20 <sup>a</sup>	3,16±0,05 <sup>a</sup>
TERMO4>3,73	33,47±1,32 <sup>a</sup>	12,07±1,79 <sup>a</sup>	10,81±1,96 <sup>a</sup>	31,82±1,42 <sup>a</sup>	3,12±0,05 <sup>a</sup>
<b>PSICRO</b>					
PSICRO1<4,57	30,43±1,12 <sup>a</sup>	7,83±1,52 <sup>a</sup>	13,86±1,67 <sup>a</sup>	34,64±1,21 <sup>a</sup>	3,09±0,05 <sup>a</sup>
PSICRO2: 4,57-5,22	32,64±1,37 <sup>a</sup>	8,60±1,86 <sup>a</sup>	10,20±2,01 <sup>a</sup>	32,53±1,47 <sup>a</sup>	3,18±0,06 <sup>a</sup>
PSICRO3: 5,23-6,02	31,88±1,34 <sup>a</sup>	9,96±1,82 <sup>a</sup>	11,34±2,00 <sup>a</sup>	33,32±1,44 <sup>a</sup>	3,19±0,06 <sup>a</sup>
PSICRO4>6,02	31,38±1,65 <sup>a</sup>	9,38±2,24 <sup>a</sup>	11,66±2,47 <sup>a</sup>	32,56±1,77 <sup>a</sup>	3,09±0,07 <sup>a</sup>
<b>PSEUDO</b>					
PSEUDO1<2,65	33,25±1,43 <sup>a</sup>	9,74±1,93 <sup>a</sup>	10,64±2,12 <sup>ab</sup>	34,58±1,53 <sup>a</sup>	3,18±0,06 <sup>a</sup>
PSEUDO2: 2,65-3,14	32,07±1,19 <sup>a</sup>	7,00±1,62 <sup>a</sup>	9,10±1,78 <sup>b</sup>	34,03±1,28 <sup>a</sup>	3,16±0,05 <sup>a</sup>
PSEUDO3: 3,15-3,72	31,70±1,20 <sup>a</sup>	8,66±1,62 <sup>a</sup>	10,79±1,77 <sup>ab</sup>	34,13±1,28 <sup>a</sup>	3,03±0,05 <sup>a</sup>
PSEUDO4>3,72	29,31±1,48 <sup>a</sup>	10,35±2,01 <sup>a</sup>	16,54±2,19 <sup>a</sup>	30,31±1,59 <sup>a</sup>	3,18±0,06 <sup>a</sup>
<b>COLIT</b>					
COLIT1<2,59	33,44±1,25 <sup>a</sup>	11,29±1,69 <sup>a</sup>	11,06±1,86 <sup>a</sup>	30,96±1,34 <sup>a</sup>	3,10±0,05 <sup>a</sup>
COLIT2: 2,59-3,15	32,57±1,17 <sup>ab</sup>	10,35±1,59 <sup>a</sup>	9,27±1,73 <sup>a</sup>	34,36±1,25 <sup>a</sup>	3,19±0,05 <sup>a</sup>
COLIT3: 3,16-3,81	30,91±1,17 <sup>ab</sup>	7,21±1,58 <sup>a</sup>	13,90±1,74 <sup>a</sup>	34,28±1,25 <sup>a</sup>	3,13±0,05 <sup>a</sup>
COLIT4>3,81	29,41±1,37 <sup>b</sup>	6,91±1,86 <sup>a</sup>	12,84±2,01 <sup>a</sup>	33,48±1,47 <sup>a</sup>	3,13±0,06 <sup>a</sup>
<b>BAL</b>					
BAL1<4,31	30,45±1,38 <sup>ab</sup>	10,19±1,88 <sup>a</sup>	12,97±2,06 <sup>a</sup>	33,11±1,49 <sup>a</sup>	3,06±0,06 <sup>a</sup>
BAL2: 4,31-4,94	30,53±1,21 <sup>b</sup>	9,74±1,64 <sup>a</sup>	13,23±1,78 <sup>a</sup>	33,63±1,30 <sup>a</sup>	3,15±0,05 <sup>a</sup>
BAL3: 4,95-5,40	34,06±1,20 <sup>a</sup>	9,28±1,63 <sup>a</sup>	8,22±1,77 <sup>a</sup>	31,69±1,29 <sup>a</sup>	3,18±0,05 <sup>a</sup>
BAL4>5,40	31,28±1,40 <sup>ab</sup>	6,57±1,90 <sup>a</sup>	12,65±2,09 <sup>a</sup>	34,61±1,50 <sup>a</sup>	3,16±0,06 <sup>a</sup>
<b>CGPCN</b>					
CGPCN 1<3,53	31,57±1,37 <sup>a</sup>	6,55±1,86 <sup>a</sup>	9,46±2,04 <sup>a</sup>	35,00±1,48 <sup>a</sup>	3,25±0,06 <sup>a</sup>
CGPCN 2: 3,53-4,18	32,76±1,22 <sup>a</sup>	9,10±1,65 <sup>a</sup>	10,46±1,82 <sup>a</sup>	33,98±1,31 <sup>a</sup>	3,19±0,05 <sup>a</sup>
CGPCN 3: 4,19-4,82	31,28±1,22 <sup>a</sup>	9,43±1,66 <sup>a</sup>	14,07±1,81 <sup>a</sup>	32,34±1,31 <sup>a</sup>	3,06±0,05 <sup>a</sup>
CGPCN 4>4,82	30,71±1,39 <sup>a</sup>	10,69±1,86 <sup>a</sup>	13,08±2,07 <sup>a</sup>	31,73±1,49 <sup>a</sup>	3,04±0,06 <sup>a</sup>
<b>BAB</b>					
BAB1<2,96	30,75±1,40 <sup>a</sup>	7,14±1,90 <sup>b</sup>	10,57±2,06 <sup>ab</sup>	35,97±1,51 <sup>a</sup>	3,19±0,06 <sup>a</sup>
BAB2: 2,96-3,36	30,14±1,16 <sup>a</sup>	7,89±1,57 <sup>b</sup>	15,23±1,73 <sup>a</sup>	34,44±1,24 <sup>a</sup>	3,19±0,05 <sup>a</sup>
BAB3: 3,37-3,63	32,96±1,00 <sup>a</sup>	7,99±1,37 <sup>b</sup>	10,56±1,55 <sup>b</sup>	32,92±1,08 <sup>ab</sup>	3,09±0,04 <sup>a</sup>
BAB4>3,63	32,49±1,18 <sup>a</sup>	12,75±1,60 <sup>a</sup>	10,71±1,74 <sup>ab</sup>	29,71±1,27 <sup>b</sup>	3,08±0,05 <sup>a</sup>
<b>SC</b>					
SC1<4,15	31,33±1,17 <sup>a</sup>	10,13±1,59 <sup>a</sup>	12,93±1,73 <sup>ab</sup>	31,07±1,26 <sup>b</sup>	3,17±0,05 <sup>ab</sup>
SC2: 4,15-4,33	31,22±1,19 <sup>a</sup>	9,41±1,61 <sup>a</sup>	13,45±1,77 <sup>a</sup>	33,24±1,28 <sup>ab</sup>	3,24±0,05 <sup>a</sup>
SC3: 4,34-4,60	33,46±1,16 <sup>a</sup>	8,05±1,57 <sup>a</sup>	8,62±1,71 <sup>b</sup>	36,11±1,24 <sup>a</sup>	3,11±0,05 <sup>b</sup>
SC4>4,61	30,32±1,24 <sup>a</sup>	8,17±1,69 <sup>a</sup>	12,06±1,86 <sup>ab</sup>	32,63±1,34 <sup>ab</sup>	3,04±0,05 <sup>b</sup>
<b>RCST</b>					
RCST1<5,88	30,57±1,26 <sup>a</sup>	8,57±1,71 <sup>ab</sup>	11,66±1,87 <sup>a</sup>	34,75±1,36 <sup>a</sup>	3,08±0,05 <sup>a</sup>
RCST2: 5,88-6,03	31,13±1,16 <sup>a</sup>	6,52±1,57 <sup>b</sup>	11,72±1,73 <sup>a</sup>	32,39±1,24 <sup>a</sup>	3,11±0,05 <sup>a</sup>
RCST3: 6,04-6,17	31,22±1,15 <sup>a</sup>	11,49±1,57 <sup>a</sup>	13,62±1,72 <sup>a</sup>	31,85±1,24 <sup>a</sup>	3,11±0,05 <sup>a</sup>
RCST4>6,17	33,42±1,26 <sup>a</sup>	9,19±1,70 <sup>ab</sup>	10,07±1,86 <sup>a</sup>	34,06±1,35 <sup>a</sup>	3,26±0,05 <sup>a</sup>

MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas spp.*, COLIT= coliformes totales, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB= esporas butíricas, SC= estafilococos totales, RCST= recuento de células somáticas de leche de tanque (MESO, TERMO, PSICRO, PSEUDO, ECOLI, COLI, BAL, CGPCN, SCP, SCN=logaritmo ufc/mL, BAB= logaritmo esporas/L, RCST= logaritmo cel/mL); RCT= tiempo de coagulación, K<sub>20</sub>= velocidad de endurecimiento, A<sub>30</sub>= dureza del coágulo a los 30 minutos, A<sub>60</sub>= dureza del coágulo a los 60 minutos, RCUA= rendimiento de la cuajada (RCT y K<sub>20</sub>= minutos, A<sub>30</sub> y A<sub>60</sub>= milímetros, RCUA= grs/10 mL); **superíndices distintos a, b: p<0,05**

**RESUMEN**

👤 La **estación del año** afecta significativamente a todas las características tecnológicas, disminuyendo el tiempo de coagulación y la velocidad de endurecimiento, y aumentando la dureza de la cuajada a treinta ( $A_{30}$ ) y a sesenta minutos ( $A_{60}$ ) con la leche de otoño. Asimismo, el mayor rendimiento de la cuajada (RCUA) se obtiene en otoño e invierno.

👤 **Características físico-químicas:**

- RCUA aumenta cuando se incrementa el contenido en grasa y proteína total de la leche.
- La disminución del pH de la leche de tanque da lugar a un descenso del tiempo de coagulación (RCT) y de la velocidad de endurecimiento de la cuajada ( $K_{20}$ ), así como un aumento de la dureza del coágulo y de RCUA.

👤 **Características higiénico-sanitarias:**

- El aumento del recuento de MESO en la leche de tanque da lugar a un aumento significativo de la dureza de la cuajada ( $A_{30}$  y  $A_{60}$ ), y a un descenso del tiempo de coagulación (RCT) y de la velocidad de endurecimiento de la cuajada ( $K_{20}$ ).
- El aumento del recuento de BAB en la leche de tanque da lugar a un descenso significativo de la dureza de la cuajada a los 60 minutos ( $A_{60}$ ), indicando una posible influencia del recuento de esporas butíricas en el proceso de coagulación de la leche.
- El aumento del recuento del recuento de SC da lugar a un descenso de RCUA, mientras que dicho recuento no presenta una influencia clara sobre la dureza de la cuajada a 60 minutos ( $A_{60}$ ), haciéndose necesario estudios en profundidad sobre la tipología de especies y/o cepas implicadas y su acción sobre la coagulación de la leche.

### SUMMARY

- 👤 The **season** has significantly affected all the technological characteristics of bulk-tank milk, decreasing rennet clotting and curd firming times, and increasing curd firmness at 30 and 60 minutes in curds made with autumn milk. Also, the highest curd yield (RCUA) is obtained in autumn and winter.
- 👤 **Physico-chemical characteristics:**
  - RCUA increases when fat and total protein contents of milk also increases.
  - The decrease of bulk-tank milk pH results in a drop of rennet clotting times (RCT) and curd firming times ( $K_{20}$ ), as well as an increment of curd firmness and RCUA.
- 👤 **Hygienic-sanitary characteristics:**
  - The increase of total bacterial count results in a significant increment of curd firmness ( $A_{30}$  y  $A_{60}$ ), and a drop of rennet clotting time (RCT) and curd firming time ( $K_{20}$ ).
  - The increment of BAB in bulk-tank milk causes a significant decrease of curd firmness at 60 minutes ( $A_{60}$ ), denoting a possible influence of spores of butyric acid bacteria count on the milk coagulation process.
  - The increase of total staphylococci count (SC) results in a decrease of RCUA, whereas SC count has no clear influence on curd firmness at 60 minutes ( $A_{60}$ ), requiring in-depth studies about the types of species and/or strains involved, and their action on milk coagulation process.

#### 9.4. DIFERENCIACIÓN DEL COMPORTAMIENTO TECNOLÓGICO DE LA LECHE Y RELACIÓN CON SUS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS, COLORIMÉTRICAS, HIGIÉNICO-SANITARIAS Y TECNOLÓGICAS.

En los epígrafes anteriores se han comentado las dificultades que plantea el estudio de las características tecnológicas de la leche de tanque de oveja. Los resultados de este estudio indican un gran número de muestras de coagulación más lenta, por encima de treinta minutos desde la adición del cuajo, o la falta de correlación entre la dureza del coágulo a treinta y sesenta minutos ( $A_{30}$  y  $A_{60}$ ), lo que revelaría la existencia de una gran heterogeneidad en el comportamiento de las distintas leches estudiadas desde el punto de vista tecnológico. Las limitaciones para interpretar los resultados también fueron planteadas por Bittante (2011), sobre todo debido a la existencia de muestras que no coagulan y a la naturaleza de la información que ofrecen parámetros como  $A_{30}$  y  $K_{20}$ . Además, para la comprensión del proceso de coagulación es importante analizar el proceso de sinéresis, que se define como aquel por el cual la cuajada, obtenida por coagulación enzimática y mantenida en reposo, se concentra por eliminación de agua y de constituyentes solubles.

Por ello, en este estudio, se han establecido cuatro grupos con las muestras que han coagulado ( $n=308$ ), en función de las condiciones especificadas en la **Tabla 31** respecto al tiempo de coagulación (RCT) y a la relación entre  $A_{30}$  y  $A_{60}$ .

**Tabla 31. Clasificación de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de su comportamiento en la coagulación.**

	NÚMERO DE MUESTRAS	TIEMPO DE COAGULACIÓN	DUREZA DEL COÁGULO
<b>GRUPO 1</b>	58	RCT<30 minutos	$A_{30}>A_{60}$
<b>GRUPO 2</b>	78	RCT<30 minutos	$A_{30}<A_{60}$
<b>GRUPO 3</b>	172	RCT>30 minutos	$A_{30}<A_{60}$
<b>GRUPO 4</b>	0	RCT>30 minutos	$A_{30}>A_{60}$

RCT= tiempo de coagulación,  $A_{30}$ = dureza del coágulo a los 30 minutos,  $A_{60}$ = dureza del coágulo a los 60 minutos.

La representación gráfica de las distintas muestras de leche de tanque en función de esta clasificación se muestra en la **Figura 65**. Así, el Grupo 1 (19% del total de muestras analizadas) lo componen las leches que alcanzan la coagulación máxima antes de los 30 minutos y presentan sinéresis rápida; el Grupo 2 (25% del total de muestras analizadas) está formado por muestras de leche que coagulan antes de 30 minutos, y cuya cuajada va endureciéndose hasta el final del proceso de coagulación, no presentando sinéresis rápida; el Grupo 3 (56% del total de muestras analizadas) por muestras de leche que coagulan después de 30 minutos de la adición de cuajo, y cuya cuajada va endureciéndose hasta el final del proceso de coagulación, no presentando sinéresis rápida; y el Grupo 4 lo integrarían las muestras de leche que coagulan después de 30 minutos y presentan sinéresis rápida (0% del total de muestras analizadas). En resumen, el resultado de esta clasificación evidencia el gran número de

muestras que coagulan después de 30 minutos de la adición del cuajo y la ausencia de muestras en el Grupo 4.

#### 9.4.1. DESCRIPCIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS TECNOLÓGICAS DE LOS GRUPOS DE COAGULACIÓN.

Las características tecnológicas de los distintos grupos de muestras de leche de tanque en función de su comportamiento en la coagulación se muestran en la **Tabla 32**. Aunque los resultados están condicionados por la propia definición de las características de los grupos, existe una diferencia entre los Grupos 1 y 2 ( $RCT < 30$  minutos) para el **tiempo de coagulación**, siendo más rápida la coagulación en el Grupo 1 que en el Grupo 2: 16,33 vs 23,58 minutos.

En cuanto a la **velocidad de endurecimiento de la cuajada ( $K_{20}$ )**, se obtienen valores muy superiores en el Grupo 3, de coagulación lenta, respecto al resto de los grupos de coagulación rápida; y entre estos se observa una tendencia similar a RCT, con una menor velocidad de endurecimiento de la cuajada en el Grupo 1 respecto al Grupo 2 (2,37 vs 6,00 minutos). Para este parámetro, es de destacar, a diferencia del anterior, un menor coeficiente de variación en el Grupo 1, respecto al resto de los grupos, cuyos CV son muy elevados.

Del parámetro **dureza del coágulo a 30 minutos ( $A_{30}$ )** obtenemos resultados, como es obvio, para los grupos que comienzan el proceso de coagulación antes de 30 minutos, siendo superior para el Grupo 1 que para el Grupo 2: 34,91 vs 21,63 mm. A su vez  $A_{60}$  presenta menores valores para el Grupo 1 que para el Grupo 2: 27,27 vs 39,53 mm. Es decir, el Grupo 1 que es el que tiene la coagulación más rápida, también presenta una sinéresis rápida ( $A_{30} > A_{60}$ ). A diferencia del resto de parámetros, el rendimiento de la cuajada (RCUA) presenta resultados medios muy similares en los tres grupos de coagulación, siendo el Grupo 2 el que presenta un mayor valor (3,26 grs/10mL), que podría asociarse al mayor contenido en grasa y proteína de este grupo frente a los Grupos 1 y 3 (**Tabla 33**).

Del estudio por grupos se observa el diferente comportamiento que poseen las muestras, sobre todo en la relación entre el tiempo de coagulación y la dureza del coágulo. Varios autores ya han señalado la necesidad de conocer los factores que modifican los parámetros de coagulación y el rendimiento en cuajada de la leche, así como el comportamiento del proceso de sinéresis (Bittante, 2011; Pazzola y cols., 2014).

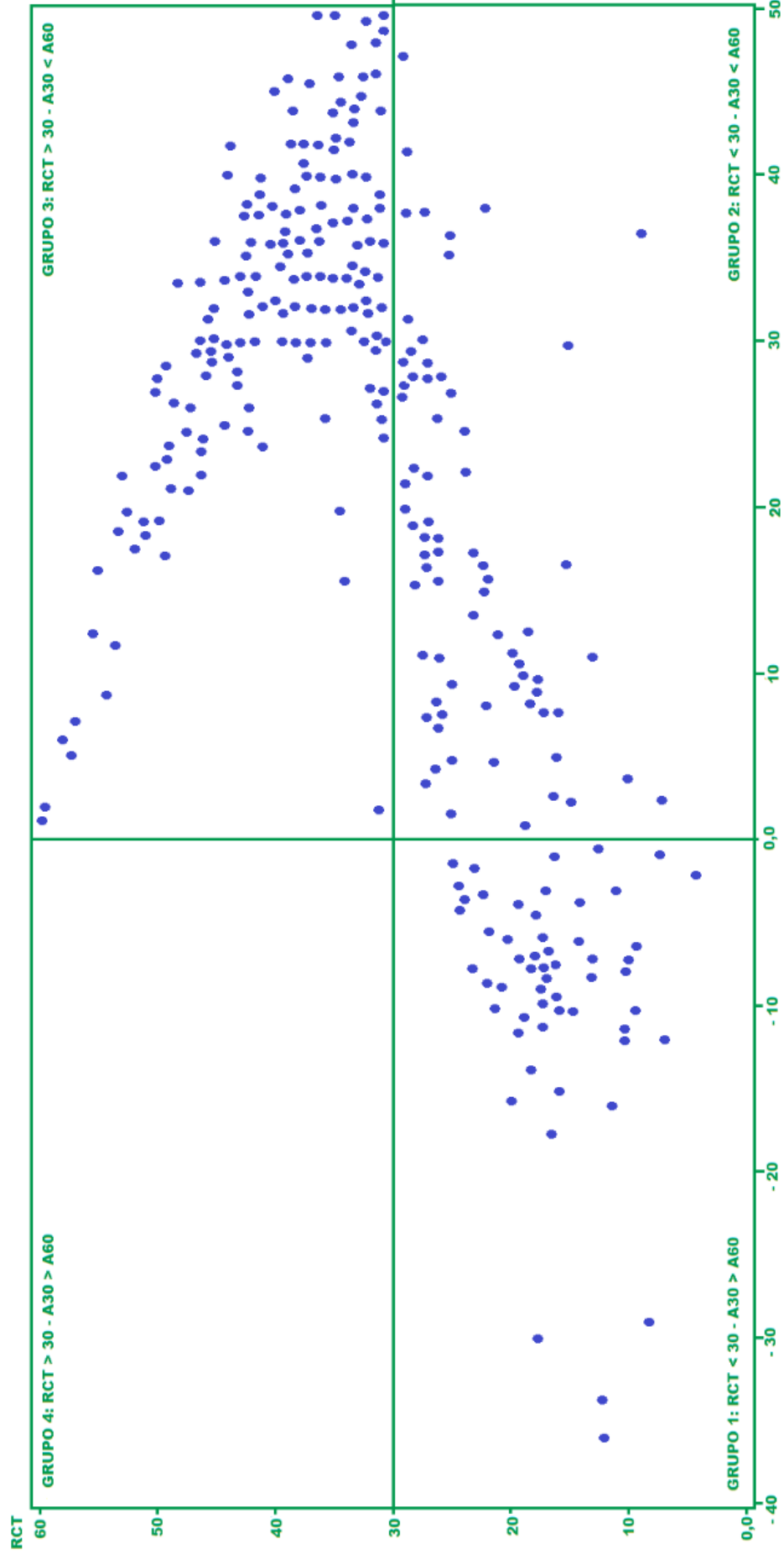


Figura 65. Representación gráfica de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega en función de su comportamiento en la coagulación (RCT= tiempo de coagulación,  $A_{30}$ = dureza del coágulo a los 30 minutos,  $A_{60}$ = dureza del coágulo a los 60 minutos).

**Tabla 32. Estadísticos descriptivos de las características tecnológicas por grupos tecnológicos de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega (n=308).**

						PERCENTIL			IC 95%	
	n	Grupo	Media	DS	CV	P25	P50	P75	Inferior	Superior
<b>TECNOLÓGICOS<sup>1</sup></b>										
<b>RCT</b>	58	<b>1</b>	16,33	4,95	30,30	12,30	17,15	19,30	14,99	17,66
	78	<b>2</b>	23,58	5,46	23,18	19,45	26,00	27,30	22,34	24,81
	172	<b>3</b>	40,13	7,49	18,68	34,30	38,30	45,15	38,99	41,26
<b>K<sub>20</sub></b>	58	<b>1</b>	2,37	0,97	41,06	1,45	2,15	3,00	2,11	2,63
	78	<b>2</b>	6,00	8,63	143,82	2,30	4,00	6,00	4,06	7,95
	172	<b>3</b>	12,15	17,21	141,63	5,00	6,00	8,00	9,54	14,75
<b>A<sub>30</sub></b>	58	<b>1</b>	34,91	10,80	30,94	29,92	35,62	41,80	32,07	37,75
	78	<b>2</b>	21,63	15,60	72,12	6,72	18,73	36,36	18,11	25,15
	172	<b>3</b>	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>A<sub>60</sub></b>	58	<b>1</b>	27,27	8,00	29,32	24,00	26,10	30,16	25,11	29,43
	78	<b>2</b>	39,53	10,45	26,43	30,00	38,10	50,38	37,18	41,89
	172	<b>3</b>	31,94	10,27	32,14	27,66	33,66	38,10	30,39	33,49
<b>RCUA</b>	58	<b>1</b>	3,08	0,50	16,09	2,68	3,01	3,52	2,95	3,21
	78	<b>2</b>	3,26	0,47	14,38	2,92	3,28	3,58	3,16	3,37
	172	<b>3</b>	3,08	0,60	19,42	2,75	3,04	3,48	2,99	3,17

DS= desviación estándar; CV= coeficiente de variación; P (25,50 y 75)= Percentiles 25, 50 y 75, respectivamente; IC 95%= intervalo de confianza al 95%; <sup>1</sup>RCT= tiempo de coagulación, K<sub>20</sub>= velocidad de endurecimiento de la cuajada, A<sub>30</sub>= dureza del coágulo a los 30 minutos, A<sub>60</sub>= dureza del coágulo a los 60 minutos, RCUA= rendimiento de la cuajada (RCT y K<sub>20</sub>= minutos, A<sub>30</sub> y A<sub>60</sub>= milímetros, RCUA= grs/10 mL.

Los estadísticos descriptivos para las **características físico-químicas y los índices colorimétricos** respecto a los grupos tecnológicos definidos para la leche de tanque se muestran en la **Tabla 33**. Los valores medios de la composición de la leche de los distintos grupos se encuentran en los rangos descritos en el **Apartado 7.1.**, de calidad físico-química (**Tabla 11**). Se observa en la **Tabla 33** que en el Grupo 2, en general, los parámetros físico-químicos tienen valores medios superiores al resto de los grupos, excepto para caseína total, que es ligeramente más alto en el Grupo 1, y para la lactosa, que es superior en el Grupo 3. Cabe destacar el valor del intervalo de confianza para la relación Ct/G en las muestras del Grupo 3, ya que posee un rango de valores mucho más amplio que el resto de los grupos (0,61-0,80). Asimismo, el Grupo 1 es el que presenta un menor pH respecto al resto de los grupos. En cuanto a los índices colorimétricos, el Grupo 3 es el que presenta los resultados medios, en valor absoluto, más elevados respecto a los otros dos grupos.

En la **Figura 66** se presenta la distribución de frecuencias de los parámetros físico-químicos de la leche de tanque, en función de su percentil 50, para los distintos grupos tecnológicos definidos. Se



observa un comportamiento similar en los distintos grupos para los parámetros grasa, proteína bruta, extracto seco, caseína total, contenido en urea, siendo el Grupo 3 el que tiene un mayor porcentaje de muestras con concentraciones inferiores al percentil 50, estadísticamente significativos para extracto seco, lactosa, urea y pH (Chi-cuadrado  $p < 0,05$ ). Esta circunstancia relacionaría prolongados tiempos de coagulación con una menor riqueza de la leche, en la línea de los resultados del **Apartado 9.2.1**. También para el índice colorimétrico  $a^*$  (Chi-cuadrado  $p < 0,01$ ) se obtiene un mayor porcentaje de muestras inferiores al percentil 50 en el Grupo 3, en la línea de la relación directa establecida en la **Tabla 12** de este estudio entre este parámetro y los principales componentes de la leche.

Los estadísticos descriptivos para las **características higiénico-sanitarias** de los grupos tecnológicos de la leche de tanque de las ganaderías de raza Manchega estudiadas se muestran en la **Tabla 34**. Los valores medios para los distintos grupos se encuentran en los rangos descritos en el **Apartado 8.1.**, de calidad microbiológica (**Tabla 16**). Se observa en la **Tabla 34** que el Grupo 1 presenta valores medios superiores para la gran mayoría de gérmenes estudiados, salvo para BAB y SCP.

En la **Figura 67** se presenta la distribución de frecuencias de los recuentos microbiológicos y de células somáticas de la leche de tanque, en función de su percentil 50, para los grupos tecnológicos definidos. Se observa un comportamiento similar en los distintos grupos para los MESO, PSEUDO, COLI, CGPCN (Chi-cuadrado  $p < 0,01$ ), y para BAL y RCST (Chi-cuadrado  $p < 0,05$ ), con un mayor porcentaje de muestras con recuentos superiores al percentil 50 en el Grupo 1, similares en número en el Grupo 2, y menores en el Grupo 3. Estos resultados indicarían que una mayor contaminación microbiana provoca coagulaciones y sinéresis rápidas con cuajadas blandas en el Grupo 1, lo cual no sería deseable, y que el equilibrio microbiano del Grupo 2, que también es el que tiene unos mejores resultados en cuanto a composición (**Tabla 33**), permitiría obtener cuajadas rápidas y firmes, que en principio sería el comportamiento deseable. Por su parte el Grupo 3, tendría menor número de muestras con recuentos inferiores al percentil 50, y además una menor composición físico-química (**Tabla 33**) que daría lugar a cuajadas más firmes, pero de coagulación más lenta.

**Tabla 33. Estadísticos descriptivos de las características físico-químicas y de los índices colorimétricos por grupos tecnológicos de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega (n=308).**

						PERCENTIL			IC 95%	
	n	Grupo	Media	DS	CV	P25	P50	P75	Inferior	Superior
<b>FQ<sup>1</sup></b>										
<b>G</b>	58	1	7,97	0,81	10,11	7,37	7,99	8,37	7,75	8,18
	78	2	8,02	0,88	10,97	7,52	7,95	8,59	7,82	8,22
	172	3	7,77	0,79	10,20	7,17	7,68	8,25	7,65	7,89
<b>Pt</b>	58	1	6,11	0,44	7,12	5,81	6,09	6,31	6,00	6,23
	78	2	6,13	0,52	8,44	5,74	6,02	6,46	6,01	6,24
	172	3	6,00	0,54	8,94	5,65	5,89	6,28	5,92	6,08
<b>Es</b>	58	1	19,48	1,09	5,57	18,58	19,32	20,25	19,19	19,77
	78	2	19,63	1,25	6,38	18,80	19,45	20,48	19,34	19,91
	172	3	19,27	1,14	5,94	18,47	19,07	20,13	19,09	19,44
<b>Ct</b>	58	1	4,91	0,36	7,33	4,65	4,89	5,09	4,81	5,01
	78	2	4,87	0,46	9,39	4,59	4,79	5,20	4,77	4,97
	172	3	4,77	0,40	8,46	4,50	4,70	4,98	4,71	4,83
<b>La</b>	58	1	4,53	0,23	5,06	4,39	4,54	4,68	4,47	4,59
	78	2	4,57	0,25	5,54	4,44	4,62	4,73	4,52	4,63
	172	3	4,64	0,24	5,11	4,53	4,70	4,80	4,61	4,68
<b>Pt/Es</b>	58	1	0,31	0,02	4,95	0,30	0,31	0,32	0,31	0,32
	78	2	0,31	0,01	4,03	0,30	0,31	0,32	0,31	0,31
	172	3	0,31	0,02	5,18	0,30	0,31	0,32	0,31	0,31
<b>Ct/G</b>	58	1	0,62	0,06	9,88	0,58	0,61	0,65	0,60	0,64
	78	2	0,61	0,04	7,12	0,58	0,60	0,64	0,60	0,62
	172	3	0,62	0,05	7,95	0,58	0,61	0,65	0,61	0,80
<b>U</b>	58	1	491,23	126,11	25,67	387,00	493,50	575,50	457,46	525,01
	78	2	503,75	118,51	23,52	430,00	493,00	602,00	476,48	531,01
	172	3	481,45	117,96	24,50	395,50	466,00	547,50	462,28	500,61
<b>pH</b>	58	1	6,53	0,17	2,64	6,48	6,59	6,65	6,49	6,58
	78	2	6,65	0,14	2,16	6,58	6,64	6,71	6,62	6,68
	172	3	6,63	0,13	1,94	6,57	6,64	6,69	6,61	6,65
<b>COLOR<sup>2</sup></b>										
<b>L*</b>	58	1	81,57	0,73	0,90	81,04	81,38	82,05	81,38	81,77
	78	2	81,37	0,65	0,80	80,94	81,27	81,65	81,22	81,52
	172	3	81,63	0,68	0,83	81,12	81,47	82,26	81,52	81,73
<b>a*</b>	58	1	-1,41	0,20	-14,15	-1,54	-1,38	-1,28	-1,47	-1,36
	78	2	-1,45	0,24	-16,29	-1,59	-1,46	-1,29	-1,50	-1,40
	172	3	-1,52	0,22	-14,21	-1,62	-1,52	-1,38	-1,55	-1,48
<b>b*</b>	58	1	8,49	0,82	9,71	8,03	8,46	9,06	8,27	8,71
	78	2	8,37	0,92	10,98	7,76	8,32	9,01	8,16	8,57
	172	3	8,53	0,68	8,00	8,08	8,53	9,04	8,42	8,63

DS= desviación estándar; CV= coeficiente de variación ; P (25,50 y 75): Percentiles 25, 50 y 75, respectivamente; IC 95%: intervalo de confianza al 95%; <sup>1</sup>Físico-Químicos: G=% grasa, Pt=% proteína total, Es=% extracto seco, Ct=% caseína total, La=% lactosa, Pt/Es=proteína total/extracto seco, Ct/G= caseína total/grasa, U=urea (mg/L); <sup>2</sup>Colorimétricos: L\*= luminosidad, a\*= índice de rojo, b\*=índice de amarillo.

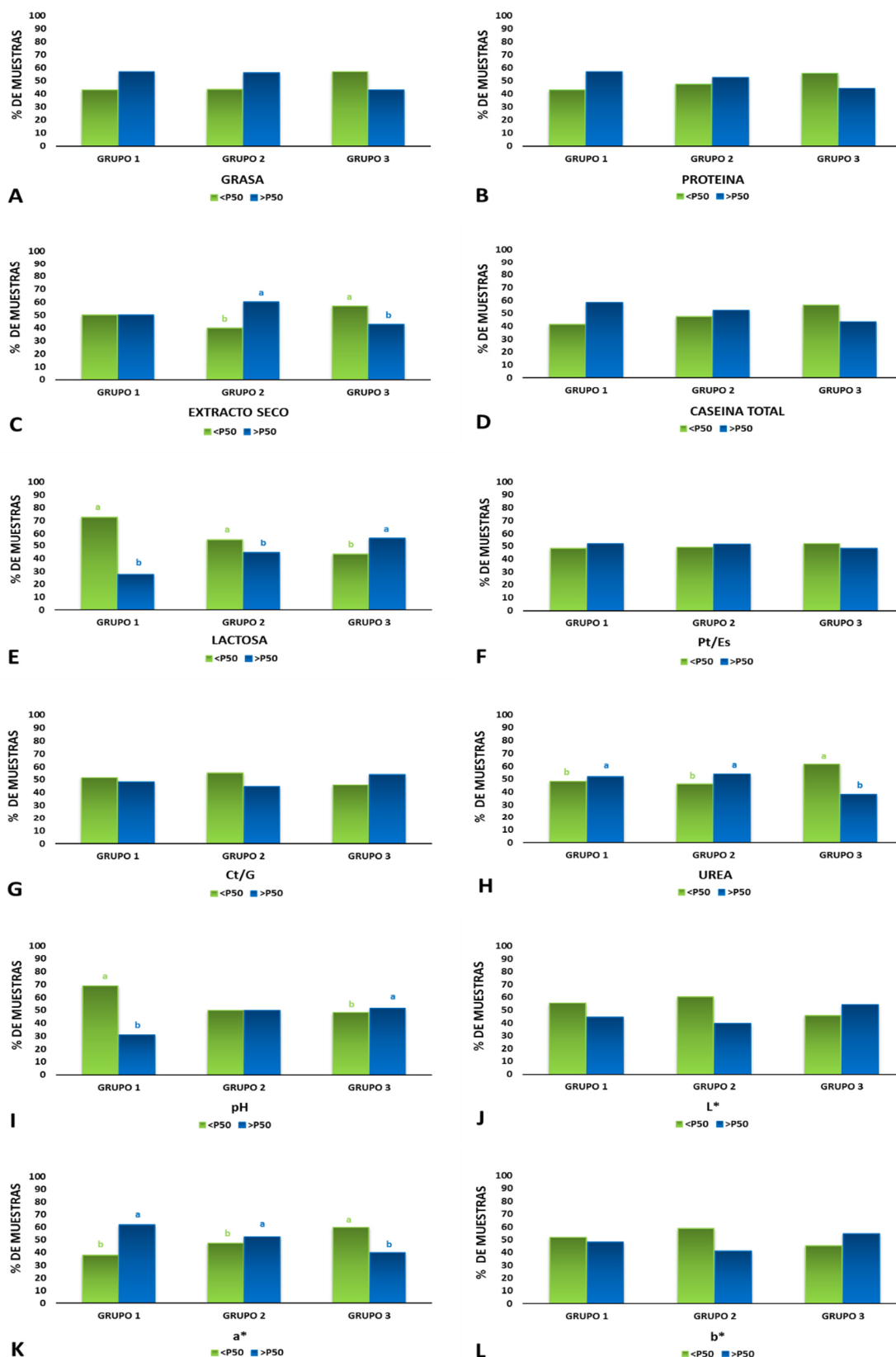


Figura 66. Frecuencia de distribución de G (grasa, A); Pt (proteína total, B); Es (Extracto seco, C); Ct (caseína total, D); La (lactosa, E); Pt/Es (proteína total/extracto seco, F); Ct/G (caseína total/grasa, G); U (urea, H); pH (pH, I); L\* (luminosidad, J); a\* (índice de rojo, K); b\* (índice de amarillo, L) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega (superíndices distintos a, b;  $p < 0,05$ ).

**Tabla 34. Estadísticos descriptivos de las características higiénico-sanitarias por grupos tecnológicos de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega (n=308).**

						PERCENTIL			IC 95%	
	n	Grupo	Media	DS	CV	P25	P50	P75	Inferior	Superior
<b>MICROBIOLOGÍA<sup>1</sup></b>										
<b>MESO</b>	58	1	5,96	0,95	15,98	5,22	5,97	6,54	5,71	6,21
	78	2	5,78	0,83	14,34	5,24	5,68	6,28	5,59	5,96
	172	3	5,52	0,62	11,15	5,11	5,44	5,81	5,43	5,62
<b>TERMO</b>	58	1	3,49	0,98	28,02	2,79	3,23	4,15	3,23	3,75
	78	2	3,26	0,89	27,34	2,73	3,16	3,68	3,06	3,46
	172	3	3,17	0,78	24,70	2,67	3,10	3,66	3,05	3,29
<b>PSICRO</b>	58	1	5,54	1,20	21,65	4,79	5,42	6,41	5,19	5,89
	78	2	5,47	1,12	20,51	4,63	5,36	6,20	5,19	5,75
	172	3	5,05	0,97	19,20	4,50	5,10	5,46	4,89	5,20
<b>PSEUDO</b>	58	1	3,65	0,66	18,05	3,01	3,77	4,17	3,47	3,82
	78	2	3,12	0,84	26,86	2,71	3,20	3,56	2,93	3,31
	172	3	2,98	0,83	27,82	2,52	3,01	3,48	2,86	3,11
<b>ECOLI</b>	58	1	1,85	1,23	66,76	1,48	1,70	2,53	1,52	2,17
	78	2	1,74	0,98	56,09	1,48	1,92	2,31	1,52	1,96
	172	3	1,57	1,19	76,31	0,00	1,78	2,20	1,39	1,75
<b>COLI</b>	58	1	3,42	1,21	35,57	2,76	3,55	4,26	3,10	3,73
	78	2	2,99	0,92	30,61	2,50	3,09	3,54	2,78	3,20
	172	3	2,73	1,22	44,87	2,22	2,85	3,45	2,54	2,92
<b>BAL</b>	58	1	5,12	0,71	13,77	4,67	5,27	5,55	4,94	5,31
	78	2	4,83	0,74	15,37	4,17	4,91	5,31	4,67	5,00
	172	3	4,85	0,70	14,39	4,31	4,89	5,36	4,75	4,96
<b>CGPCN</b>	58	1	4,64	0,74	15,83	4,24	4,78	5,19	4,45	4,84
	78	2	4,19	0,83	19,83	3,67	4,24	4,82	4,00	4,37
	172	3	4,00	0,75	18,83	3,41	3,93	4,46	3,88	4,11
<b>BAB</b>	58	1	3,35	0,58	17,20	2,96	3,24	3,72	3,20	3,51
	78	2	3,40	0,62	18,37	2,96	3,36	3,63	3,26	3,54
	172	3	3,46	0,64	18,51	2,96	3,36	3,86	3,36	3,56
<b>SCP</b>	58	1	2,29	1,36	59,49	1,69	2,64	3,19	1,93	2,66
	78	2	2,47	1,30	52,57	1,95	2,67	3,38	2,17	2,76
	172	3	2,59	1,41	54,51	1,90	2,90	3,51	2,37	2,81
<b>SCN</b>	58	1	4,37	0,55	12,56	4,01	4,25	4,87	4,23	4,52
	78	2	4,30	0,40	9,20	4,13	4,25	4,45	4,21	4,39
	172	3	4,32	0,61	14,03	4,08	4,31	4,67	4,22	4,41
<b>RCST<sup>2</sup></b>	58	1	5,98	0,25	4,24	5,81	6,00	6,17	5,92	6,05
	78	2	6,00	0,23	3,87	5,84	6,00	6,12	5,94	6,05
	172	3	6,05	0,23	3,76	5,90	6,07	6,21	6,02	6,09

DS= desviación estándar; CV= coeficiente de variación ; P (25,50 y 75)= Percentiles 25, 50 y 75, respectivamente; IC 95%= intervalo de confianza al 95%; <sup>1</sup>Microbiología: MESO= mesófilos, TERMO= termodúricos, PSICRO= psicrotrofos, PSEUDO= *Pseudomonas* spp., ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli* , BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB= esporas butíricas, SCP= estafilococos coagulasa positivos, SCN= estafilococos coagulasa negativos; BAB= esporas butíricas; <sup>2</sup>RCST= recuento de células somáticas de leche de tanque (MESO, TERMO, PSICRO, PSEUDO, ECOLI, COLI, BAL, CGPCN= ufc/mL; BAB= esporas/L; RCST=cel/mL).

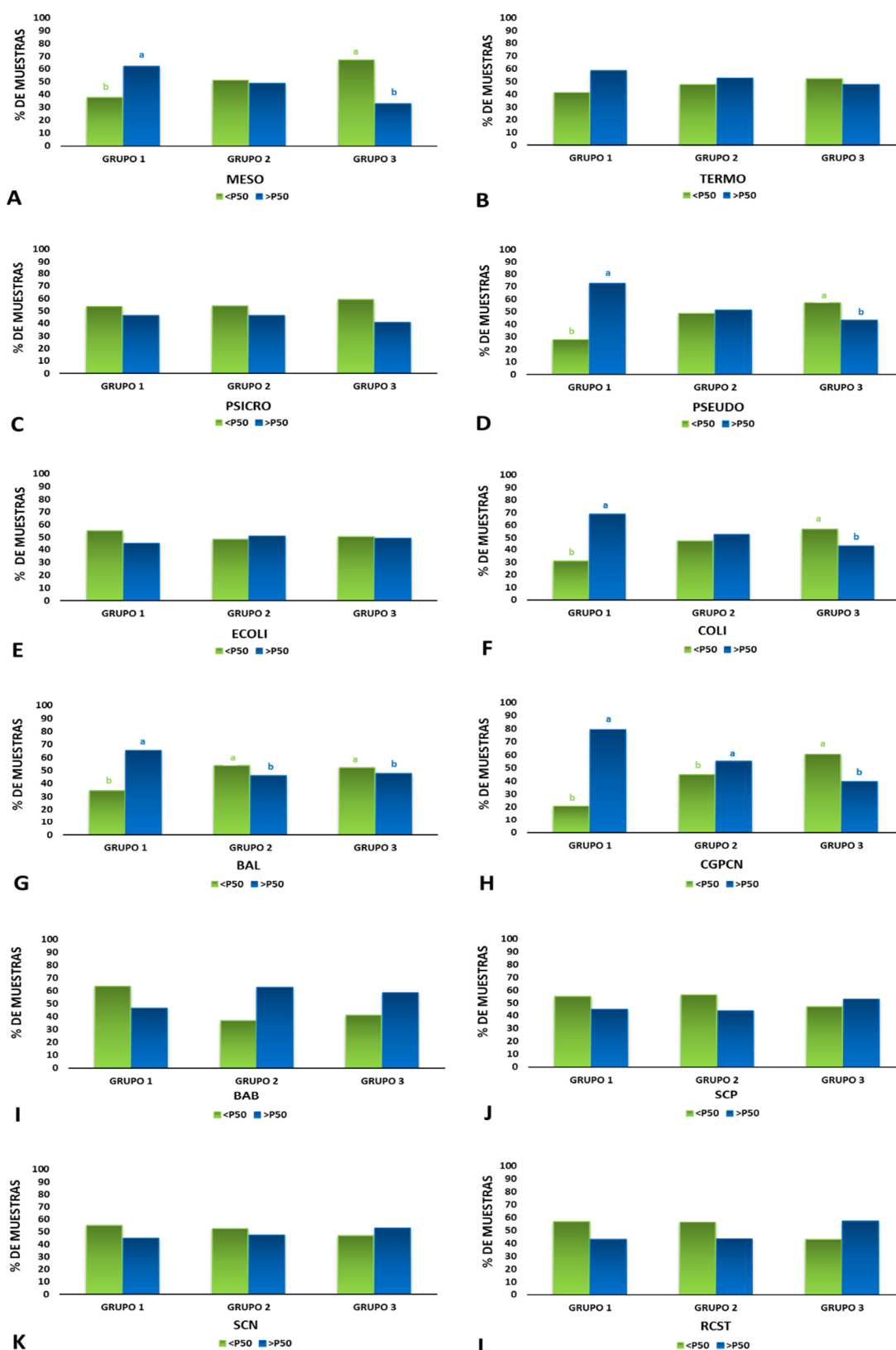


Figura 67. Frecuencia de distribución de MESO (mesófilos, A); TERMO (termodúricos, B); PSICRO (psicrotrofos, C); PSEUDO (*Pseudomonas spp.*, D); ECOLI (*Escherichia coli*, E); COLI (coliformes distintos de *Escherichia coli*, F); BAL (bacterias ácido lácticas, G); CGPCN (cocos gram-positivos catalasa-negativos, H); BAB (esporas butíricas, I); SCP (estafilococos coagulasa positivos, J); SCN (estafilococos coagulasa negativos, K); RCST (recuento de células somáticas, L) de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega (superíndices distintos a, b: p<0,05).

**RESUMEN**

Los grupos tecnológicos definidos en función del tiempo de coagulación (RCT) y de la dureza de la cuajada diferencian distintos tipos de coagulación.

	RCT (minutos)	Dureza	% Muestras	Tipología
<b>GRUPO 1</b>	RCT<30	A30>A60	19	Coagulación muy rápida-Sinéresis rápida-Menor rendimiento
<b>GRUPO 2</b>	RCT<30	A30<A60	25	Coagulación rápida -Mayor rendimiento
<b>GRUPO 3</b>	RCT>30	A30<A60	56	Coagulación lenta- -Menor rendimiento
<b>GRUPO 4</b>	RCT>30	A30>A60	0	-

**Comparativa de la leche de tanque de los grupos tecnológicos:**

- ☼ **Componentes físico-químicos:** los mayores porcentajes de los componentes físico-químicos se obtienen en el Grupo 2, excepto para:
  - caseína total, con valores ligeramente más altos en el Grupo 1.
  - lactosa, con valores más altos en el Grupo 3.
  - pH muy inferior en el Grupo 1 que en el resto de los grupos.
- ☼ **Índices colorimétricos:** El Grupo 3 presenta valores medios, en valor absoluto, más elevados que el resto de grupos.
- ☼ **Características higiénico-sanitarias:** El Grupo 1 presenta valores medios superiores para la gran mayoría de gérmenes estudiados, salvo para esporas butíricas y estafilococos coagulasa positivos.

**SUMMARY**

The technological groups defined according to rennet clotting time (RCT) and curd firmness lead to different types of milk coagulation.

	RCT (minutes)	Curd Firmness	% samples	Typology
<b>GROUP 1</b>	RCT<30	A30>A60	19	Faster coagulation- fast syneresis-lower curd yield
<b>GROUP 2</b>	RCT<30	A30<A60	25	Faster coagulation- higher curd yield
<b>GROUP 3</b>	RCT>30	A30<A60	56	Slower coagulation- –lower curd yield
<b>GROUP 4</b>	RCT>30	A30>A60	0	-

Comparison of bulk-tank milk from technological groups:

- 👤 **Physico-chemical characteristics:** the highest percentages of physico-chemical components are obtained in Group 2, except for:
  - Total casein, with slightly higher values in Group 1.
  - Lactose, with higher values in Group 3.
  - Much lower pH level in Group 1 than in the remaining groups.
- 👤 **Colorimetric indices:** Group 3 presents mean values, in absolute value, higher than the rest of groups.
- 👤 **Hygienic-sanitary characteristics:** Group 1 has higher mean values for the vast majority of studied microbial groups, except for spores of butyric acid bacteria count and coagulase positive staphylococci.

#### 9.4.2. RELACIONES ENTRE LAS CARACTERÍSTICAS TECNOLÓGICAS Y LA CALIDAD FÍSICO-QUÍMICA E HIGIÉNICO-SANITARIA DE LOS GRUPOS DE COAGULACIÓN.

Las **correlaciones entre los parámetros tecnológicos de la leche** en función de los grupos de coagulación, se presentan en la **Tabla 35**:

- En primer lugar, se observa que las correlaciones entre el tiempo de coagulación (RCT) y la velocidad de endurecimiento de la cuajada ( $K_{20}$ ) son similares en todos los grupos, positivas y significativas, tal y como se había comentado en el **Apartado 9.2.1**. Sin embargo, se encuentran diferencias en las correlaciones de ambos parámetros con la dureza del coágulo; así se observan valores muy superiores para el Grupo 2 respecto al Grupo 1, tanto entre RCT y  $A_{30}$  (-0,71 vs -0,33) como entre  $K_{20}$  y  $A_{30}$  (-0,76 vs -0,34), siendo extremas las diferencias, tanto entre RCT y  $A_{60}$  (-0,46 vs 0,00) como para  $K_{20}$  y  $A_{60}$  (-0,51 vs -0,08). Las mayores correlaciones del Grupo 2 respecto al Grupo 1 estarían relacionadas con la sinéresis rápida que se produce en el Grupo 1, así como con la rapidez en el endurecimiento de la cuajada (tiempo disponible= 30 minutos – RCT), que es menor en el Grupo 2 (6,42 minutos) respecto del Grupo 1 (8,93 minutos). [Pazzola y cols. \(2014\)](#) ya evidenciaron este fenómeno al comparar leche individual de vaca con leche de oveja, observando que la correlación entre RCT y  $A_{30}$  era superior en leche de vaca que en leche de oveja, debido al menor tiempo disponible para la leche de vaca desde que comenzaba el análisis, hasta el momento de medir la dureza media. No obstante, sería necesario seguir estudiando los factores que influyen en el comportamiento de la dureza del coágulo respecto al tiempo de coagulación por su importancia en la transformación tecnológica de la leche.
- Una de las dificultades planteadas en el estudio de todas las muestras de leche en conjunto, era la ausencia de correlación entre los parámetros de dureza del coágulo  $A_{30}$  y  $A_{60}$  ( $r=0,09$ ) (**Tabla 26**). En el estudio por grupos de coagulación se clarifica este resultado, observándose claramente que existen correlaciones positivas y significativas entre  $A_{30}$  y  $A_{60}$  para los grupos de coagulación más rápida (RCT<30 minutos), tanto en el Grupo 1 ( $r=0,51$ ) como en el Grupo 2 ( $r=0,59$ ).
- Respecto al rendimiento en cuajada, se obtienen también diferencias por grupos de coagulación. Se observan correlaciones significativas en el Grupo 3, tanto entre RCUA y RCT ( $r= -0,57$ ), como entre RCUA y  $K_{20}$  ( $r= -0,74$ ), describiendo que este grupo de muestras más numeroso tiene coagulaciones más lentas, cuajadas que van endureciéndose hasta el final, y un menor rendimiento en cuajada. Por último, no existe relación entre RCUA y la dureza del coágulo a 30 minutos en ninguno de los grupos, mientras que existe correlación significativa entre RCUA y  $A_{60}$  sólo en los Grupos 1 y 2, de coagulación más rápida,  $r= 0,29$  y



$r=0,34$ , respectivamente, no existiendo correlación entre RCUA y  $A_{60}$  en el Grupo 3, de forma similar a la relación entre RCUA y  $A_{30}$ .

**Tabla 35. Coeficientes de correlación de las características tecnológicas entre sí, por grupos tecnológicos, de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.**

PARÁMETROS <sup>1</sup>	RCT	K <sub>20</sub>	A <sub>30</sub>	A <sub>60</sub>	RCUA
RCT- Grupo 1	1,00	0,66**	-0,33*	-0,00 <sup>NS</sup>	0,21 <sup>NS</sup>
RCT- Grupo 2	1,00	0,31**	-0,71***	-0,46***	-0,09 <sup>NS</sup>
RCT- Grupo 3	1,00	0,58**	-	0,00 <sup>NS</sup>	-0,57**
K <sub>20</sub> - Grupo 1		1,00	-0,34*	-0,08 <sup>NS</sup>	0,08 <sup>NS</sup>
K <sub>20</sub> - Grupo 2		1,00	-0,76***	-0,51***	-0,10 <sup>NS</sup>
K <sub>20</sub> - Grupo 3		1,00	-	0,00 <sup>NS</sup>	-0,74**
A <sub>30</sub> - Grupo 1			1,00	0,51**	0,17 <sup>NS</sup>
A <sub>30</sub> - Grupo 2			1,00	0,59***	0,17 <sup>NS</sup>
A <sub>30</sub> - Grupo 3			1,00	-	0,00 <sup>NS</sup>
A <sub>60</sub> - Grupo 1				1,00	0,29***
A <sub>60</sub> - Grupo 2				1,00	0,34**
A <sub>60</sub> - Grupo 3				1,00	0,00 <sup>NS</sup>
RCUA- Grupo 1					1,00
RCUA- Grupo 2					1,00
RCUA- Grupo 3					1,00

<sup>1</sup>RCT= tiempo de coagulación, K<sub>20</sub>= velocidad de endurecimiento de la cuajada, A<sub>30</sub>= dureza del coágulo a los 30 minutos, A<sub>60</sub>= dureza media del coágulo a los 60 minutos, RCUA= rendimiento de la cuajada; \*\*\* $p<0,001$ , \*\* $p<0,01$ , \* $p<0,05$ , <sup>NS</sup> $p>0,05$ .

Las correlaciones entre los parámetros tecnológicos y las características físico-químicas e índices colorimétricos de la leche en función de los grupos de coagulación, se presentan en la **Tabla 36**.

- Es de destacar la dependencia con el pH de la coagulación de la leche, también descrita por otros autores (Duranti y Casoli, 1991; Manfredini y cols., 1992; Jaramillo, 2007). Se observan las mayores correlaciones en el Grupo 1, de coagulación y sinéresis rápida, respecto al resto de grupos, entre el tiempo de coagulación (RCT) y pH ( $r=0,48$ ) y entre la velocidad de endurecimiento de la cuajada (K<sub>20</sub>) y el pH ( $r=0,36$ ), reafirmando que la acidificación de la leche da lugar a un menor tiempo de coagulación y de velocidad de endurecimiento de la cuajada.
- En el Grupo 2 se obtiene una correlación negativa entre A<sub>60</sub> y lactosa ( $r=-0,43$ ), muy superior y significativa frente al resto de los grupos.
- Se observan correlaciones significativas entre A<sub>30</sub> y A<sub>60</sub> y los principales componentes de la leche para los Grupos 1 y 2. También se obtiene en este Grupo 2 una correlación positiva y

significativa entre  $A_{60}$  y Pt/Es ( $r=0,39$ ), de forma similar a la correlación entre  $A_{60}$  y urea ( $r=0,38$ ). En el Grupo 3 existen correlaciones positivas y significativas, aunque de escasa magnitud, entre la dureza del coágulo a sesenta minutos y los componentes proteicos de la leche: entre  $A_{60}$  y Pt ( $r=0,20$ ), así como entre  $A_{60}$  y caseína total ( $r=0,22$ ).

- Asimismo, la relación Pt/Es y la concentración de urea, parece tener repercusión sobre la dureza del coágulo. Se observa sólo para los Grupos 2 y 3, de endurecimiento progresivo de la cuajada, correlaciones positivas y significativas entre RCUA y Pt/ES, en la misma línea que las correlaciones entre RCUA y urea.
- Por último, también existe una correlación en el Grupo 1, negativa y significativa, entre RCUA y la relación Ct/G ( $r=-0,36$ ).
- Respecto a las correlaciones entre los parámetros tecnológicos y los índices colorimétricos de la leche no se evidencian tendencias reseñables respecto a los grupos de coagulación, salvo para el parámetro  $a^*$ , como ya se comentaba anteriormente, siendo superiores las correlaciones para el Grupo 2 respecto al resto, entre este parámetro y  $A_{30}$  ( $r=0,32$ ), y  $A_{60}$  ( $r=0,31$ ), y RCUA ( $r=0,23$ ).

Las **correlaciones entre los parámetros tecnológicos y las características higiénico-sanitarias de la leche** en función de los grupos de coagulación, se presentan en la **Tabla 37**.

- Es de destacar diferencias entre los distintos grupos de coagulación en función del tipo de microorganismos presentes en la leche de tanque. Así, en líneas generales, los Grupos 1 y 2, de coagulación más rápida, mantienen correlaciones con RCT y  $K_{20}$  negativas con los MESO y PSICRO, tal y como ya se indicaba en el **Apartado 9.2.1**, de mayor magnitud en el Grupo 1 respecto al Grupo 2: entre RCT y MESO ( $-0,58$  vs  $-0,22$ ) y entre RCT y PSICRO ( $-0,46$  vs  $-0,20$ ). También se observan correlaciones en el Grupo 1 y 2 entre los gérmenes TERMO y los parámetros RCT y  $K_{20}$ . Además, el Grupo 1 es aquel que se encuentra más influenciado para RCT y  $K_{20}$  por grupos microbianos más específicos como los COLI, BAL o los CGPCN
- Finalmente, también existe en el Grupo 1 una mayor influencia de la gran mayoría de grupos microbianos sobre el rendimiento en cuajada (RCUA), con correlaciones negativas y significativas, de mayor magnitud que en el estudio con la totalidad de las muestras (**Apartado 9.2.1**). Es de reseñar el distinto signo para la correlación entre RCUA y PSICRO para el Grupo 1 y para el Grupo 3: ( $-0,37$  vs  $+0,22$ ).

**Tabla 36. Coeficientes de correlación de las características físico-químicas e índices colorimétricos con las características tecnológicas, por grupos tecnológicos, de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.**

PARAMETROS <sup>1</sup>	G	Pt	Es	Ct	La	Pt/Es	Ct/G	U	pH	L*	a*	b*
RCT- Grupo 1	-0,11 <sup>NS</sup>	-0,05 <sup>NS</sup>	-0,09 <sup>NS</sup>	-0,08 <sup>NS</sup>	0,23 <sup>NS</sup>	-0,02 <sup>NS</sup>	0,04 <sup>NS</sup>	0,07 <sup>NS</sup>	0,48**	0,06 <sup>NS</sup>	-0,17 <sup>NS</sup>	-0,09 <sup>NS</sup>
RCT- Grupo 2	-0,10 <sup>NS</sup>	-0,17 <sup>NS</sup>	-0,14 <sup>NS</sup>	-0,23*	0,22 <sup>NS</sup>	-0,14 <sup>NS</sup>	-0,13 <sup>NS</sup>	-0,12 <sup>NS</sup>	-0,23*	0,16 <sup>NS</sup>	-0,20 <sup>NS</sup>	-0,15 <sup>NS</sup>
RCT- Grupo 3	0,04 <sup>NS</sup>	-0,04 <sup>NS</sup>	0,00 <sup>NS</sup>	-0,02 <sup>NS</sup>	0,02 <sup>NS</sup>	-0,12 <sup>NS</sup>	-0,08 <sup>NS</sup>	-0,05 <sup>NS</sup>	0,21**	-0,15*	-0,06 <sup>NS</sup>	0,16*
K <sub>20</sub> - Grupo 1	-0,07 <sup>NS</sup>	-0,14 <sup>NS</sup>	-0,08 <sup>NS</sup>	-0,16 <sup>NS</sup>	0,16 <sup>NS</sup>	-0,09 <sup>NS</sup>	-0,02 <sup>NS</sup>	-0,07 <sup>NS</sup>	0,36**	0,25**	-0,11 <sup>NS</sup>	0,04 <sup>NS</sup>
K <sub>20</sub> - Grupo 2	-0,10 <sup>NS</sup>	-0,19 <sup>NS</sup>	-0,14 <sup>NS</sup>	-0,16 <sup>NS</sup>	0,15 <sup>NS</sup>	-0,16 <sup>NS</sup>	-0,06 <sup>NS</sup>	-0,07 <sup>NS</sup>	-0,13 <sup>NS</sup>	0,14 <sup>NS</sup>	-0,13 <sup>NS</sup>	0,02 <sup>NS</sup>
K <sub>20</sub> - Grupo 3	-0,04 <sup>NS</sup>	-0,19 <sup>NS</sup>	-0,11 <sup>NS</sup>	-0,20*	0,05 <sup>NS</sup>	-0,15 <sup>NS</sup>	-0,14 <sup>NS</sup>	-0,06 <sup>NS</sup>	0,08 <sup>NS</sup>	0,08 <sup>NS</sup>	-0,08 <sup>NS</sup>	0,11 <sup>NS</sup>
A <sub>30</sub> - Grupo 1	0,23**	0,45**	0,35**	0,45**	-0,35**	0,28*	0,11 <sup>NS</sup>	0,00 <sup>NS</sup>	0,04 <sup>NS</sup>	-0,12 <sup>NS</sup>	0,19 <sup>NS</sup>	0,05 <sup>NS</sup>
A <sub>30</sub> - Grupo 2	0,19 <sup>NS</sup>	0,29**	0,22*	0,30**	-0,35**	0,27*	0,14 <sup>NS</sup>	0,17 <sup>NS</sup>	0,21 <sup>NS</sup>	-0,18 <sup>NS</sup>	0,32**	0,15 <sup>NS</sup>
A <sub>30</sub> - Grupo 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00 <sup>NS</sup>	0,00 <sup>NS</sup>	0,00 <sup>NS</sup>
A <sub>60</sub> - Grupo 1	0,33*	0,36**	0,40**	0,35**	-0,21 <sup>NS</sup>	0,08 <sup>NS</sup>	-0,08 <sup>NS</sup>	0,14 <sup>NS</sup>	0,06 <sup>NS</sup>	-0,14 <sup>NS</sup>	0,15 <sup>NS</sup>	0,08 <sup>NS</sup>
A <sub>60</sub> - Grupo 2	0,29**	0,41**	0,33**	0,38**	-0,43***	0,39**	0,13 <sup>NS</sup>	0,38**	0,24*	-0,17 <sup>NS</sup>	0,31**	0,26*
A <sub>60</sub> - Grupo 3	0,07 <sup>NS</sup>	0,20**	0,12 <sup>NS</sup>	0,22**	-0,07 <sup>NS</sup>	0,14 <sup>NS</sup>	0,09 <sup>NS</sup>	0,05 <sup>NS</sup>	-0,16*	-0,08 <sup>NS</sup>	0,11 <sup>NS</sup>	-0,08 <sup>NS</sup>
RCUA-Grupo 1	0,60***	0,41**	0,67***	0,41**	-0,31**	-0,24 <sup>NS</sup>	-0,36**	0,03 <sup>NS</sup>	0,49**	-0,45**	0,04 <sup>NS</sup>	0,10 <sup>NS</sup>
RCUA-Grupo 2	0,68***	0,82***	0,79***	0,69***	-0,32**	0,42**	-0,09 <sup>NS</sup>	0,45***	0,28*	-0,14 <sup>NS</sup>	0,23*	0,22 <sup>NS</sup>
RCUA-Grupo 3	0,47***	0,66***	0,61***	0,59***	-0,40***	0,37***	-0,03 <sup>NS</sup>	0,33***	0,44***	-0,47***	0,11 <sup>NS</sup>	0,08 <sup>NS</sup>

<sup>1</sup>RCT= tiempo de coagulación, K<sub>20</sub>= velocidad de endurecimiento de la cuajada, A<sub>30</sub>= dureza del coágulo a los 30 minutos, A<sub>60</sub>= dureza del coágulo a los 60 minutos, RCUA= rendimiento de la cuajada, G=grasa, Pt=proteína total, Es=extracto seco, Ct=caseína total, La=lactosa, Pt/Es=proteína total/extracto seco, Ct/G= caseína total/grasa, U=urea, L\*= luminosidad, a\*= índice de rojo, b\*=índice de amarillo; \*\*\*p<0,001, \*\*p<0,01, \*p<0,05, <sup>NS</sup>p>0,05.

Tabla 37. Coeficientes de correlación de las características microbiológicas con las características tecnológicas, por grupos tecnológicos, de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.

PARAMETROS <sup>1</sup>	MESO	TERMO	PSICRO	PSEUDO	ECOLI	COLI	BAL	CGPCN	BAB	SCP	SCN	RCST
RCT- Grupo 1	-0,58***	-0,33*	-0,46**	-0,18NS	-0,12NS	-0,31*	-0,31*	-0,43**	0,13NS	-0,04NS	-0,19NS	-0,15NS
RCT- Grupo 2	-0,22*	-0,32**	-0,20NS	-0,02NS	0,05NS	0,01NS	-0,07NS	-0,04NS	0,01NS	0,08NS	0,01NS	-0,20NS
RCT- Grupo 3	-0,06NS	0,09NS	0,04NS	-0,23**	-0,13NS	-0,10NS	-0,10NS	-0,14NS	0,18*	0,01NS	-0,04NS	0,13NS
K <sub>20</sub> - Grupo 1	-0,59***	-0,33*	-0,43**	-0,09NS	-0,02NS	-0,21NS	-0,21NS	-0,40**	-0,12NS	-0,01NS	-0,14NS	-0,06NS
K <sub>20</sub> - Grupo 2	-0,42**	-0,23*	-0,53***	-0,12NS	-0,05NS	-0,13NS	-0,08NS	-0,18NS	0,17NS	0,03NS	0,01NS	0,07NS
K <sub>20</sub> - Grupo 3	-0,19*	-0,03NS	-0,13NS	-0,06NS	0,03NS	-0,08NS	-0,11NS	-0,05NS	0,16*	0,04NS	0,04NS	0,06NS
A <sub>30</sub> - Grupo 1	0,44**	0,19NS	0,32*	-0,07NS	-0,18NS	0,23NS	0,08NS	0,16NS	0,09NS	-0,05NS	-0,16NS	0,06NS
A <sub>30</sub> - Grupo 2	0,40**	0,39**	0,43**	0,14NS	0,06NS	0,10NS	0,17NS	0,22NS	-0,06NS	0,00NS	0,10NS	0,12NS
A <sub>30</sub> - Grupo 3	0,00NS	0,00NS	0,00NS	0,00NS	0,00NS	0,00NS	0,00NS	0,00NS	0,00NS	0,00NS	0,00NS	0,00NS
A <sub>60</sub> - Grupo 1	0,06NS	0,05NS	-0,01NS	-0,01NS	-0,07NS	0,11NS	-0,01NS	0,02NS	0,02NS	0,09NS	-0,10NS	-0,01NS
A <sub>60</sub> - Grupo 2	0,30**	0,21NS	0,24NS	-0,12NS	0,06NS	-0,05NS	0,03NS	0,14NS	-0,14NS	-0,02NS	0,00NS	-0,02NS
A <sub>60</sub> - Grupo 3	0,18*	-0,04NS	0,08NS	0,12NS	0,04NS	0,05NS	0,06NS	0,06NS	-0,19*	-0,07NS	0,00NS	0,02NS
RCUA- Grupo 1	-0,19NS	-0,04NS	-0,37*	-0,44**	-0,33*	-0,27*	-0,48**	-0,28*	-0,12NS	-0,37**	-0,50**	-0,17NS
RCUA- Grupo 2	0,10NS	0,07NS	0,19NS	-0,26*	-0,18NS	-0,14NS	-0,15NS	-0,10NS	0,09NS	-0,07NS	-0,21NS	-0,03NS
RCUA- Grupo 3	0,12NS	0,03NS	0,22**	-0,34***	-0,10NS	-0,19*	-0,18*	-0,26***	0,04NS	-0,14NS	-0,18*	0,07NS

<sup>1</sup>RCST= tiempo de coagulación, K<sub>20</sub>= velocidad de endurecimiento de la cuajada, A<sub>30</sub>= dureza del coágulo a los 30 minutos, A<sub>60</sub>= dureza del coágulo a los 60 minutos, RCUA= rendimiento de la cuajada, MESO= mesófilos, TERMO= termofílicos, PSICRO= psicrófilos, PSEUDO= *Pseudomonas* spp, ECOLI= *Escherichia coli*, COLI= coliformes distintos de *Escherichia coli*, BAL= bacterias ácido lácticas, CGPCN= cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB= esporas butílicas del género *Clostridium*, SCP= estafilococos coagulasa positivos, SCN= estafilococos coagulasa negativos, RCST: logaritmo del recuento de células somáticas de leche de tanque; \*\*\*p<0,001, \*\*p<0,01, \*p<0,05, NS>0,05.

**RESUMEN****Relaciones entre las características tecnológicas.**

- Las correlaciones entre el tiempo de coagulación (RCT) y la velocidad de endurecimiento de la cuajada ( $K_{20}$ ) son similares en todos los grupos, positivas y significativas.
- Se observan diferencias en las correlaciones de RCT ó  $K_{20}$  con la dureza de la cuajada: son superiores para el Grupo 2 respecto al Grupo 1.
- Se obtienen correlaciones positivas y significativas entre la dureza de la cuajada a treinta ( $A_{30}$ ) y sesenta minutos ( $A_{60}$ ) para los grupos de coagulación más rápida ( $RCT < 30$  minutos), tanto en el Grupo 1 ( $r=0,51$ ) como en el Grupo 2 ( $r=0,59$ ).

**Relaciones entre las características tecnológicas y la calidad físico-química.**

- El pH mantiene las mayores correlaciones con RCT y  $K_{20}$  en el Grupo 1, reafirmando que la acidificación de la leche da lugar a un menor tiempo de coagulación y de endurecimiento de la cuajada.
- Se observan correlaciones positivas y significativas entre  $A_{30}$  y  $A_{60}$  y los principales componentes de la leche para los Grupos 1 y 2. En el Grupo 2 la lactosa tiene una correlación con  $A_{60}$  muy superior y significativa frente al resto de los grupos ( $r=-0,43$ ).

**Relaciones entre los parámetros tecnológicos y las características higiénico-sanitarias de la leche.**

- Los Grupos 1 y 2, de coagulación más rápida, mantienen correlaciones negativas entre RCT ó  $K_{20}$  con la microbiología de la leche, siendo el Grupo 1 aquel que está más condicionado por los grupos microbianos generales y específicos.
- También existe en el Grupo 1 una mayor influencia de la gran mayoría de grupos microbianos sobre el rendimiento en cuajada (RCUA), con correlaciones negativas y significativas.

### SUMMARY



#### **Relationship between technological characteristics of bulk-tank milk.**

- Positive and significant correlations between rennet clotting time (RCT) and curd firming time ( $K_{20}$ ) have been obtained in all groups.
- There are differences in the correlations of RCT or  $K_{20}$  with curd firmness: Higher for Group 2 than for Group 1.
- Positive and significant correlations have been obtained between curd firmness at 30 minutes ( $A_{30}$ ) and curd firmness at 60 minutes ( $A_{60}$ ) for the fastest technological groups ( $RCT < 30$  minutes), both in Group 1 ( $r=0.51$ ) and Group 2 ( $r=0.59$ ).



#### **Relationships between technological characteristics and physico-chemical quality of bulk-tank milk.**

- pH maintains the highest correlations with RCT and  $K_{20}$  in Group 1, reaffirming that the acidification of milk results in a shorter rennet clotting time (RCT) and curd firming time ( $K_{20}$ ).
- Positive and significant correlations are observed between  $A_{30}$  and  $A_{60}$ , and the main milk components for Groups 1 and 2. In Group 2, lactose has much higher and significant correlation with  $A_{60}$  compared to the rest of the groups ( $r=0.43$ ).



#### **Relationships between technological parameters and hygienic-sanitary characteristics of bulk-tank milk.**

- Groups 1 and 2, with faster coagulation, maintain negative correlations between RCT and  $K_{20}$  with the microbiology of the milk. Group 1 is the most conditioned by the general and differential microbial groups.
- In Group 1, there is also a greater influence of the majority of microbial groups on curd yield (RCUA), with negative and significant correlations.

### **9.5. ESTIMACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS TECNOLÓGICAS DE LECHE DE TANQUE DE LAS GANADERÍAS DE RAZA OVINA MANCHEGA.**

En este apartado se aborda la estimación de las características tecnológicas de la leche de tanque: tiempo de coagulación (RCT) y velocidad de endurecimiento de la cuajada ( $K_{20}$ ), dureza de la cuajada a 30 y 60 minutos ( $A_{30}$  y  $A_{60}$ ) y rendimiento de la cuajada (RCUA) en función de las características físico-químicas e higiénico-sanitarias de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega. El estudio de regresión se ha realizado tanto para el conjunto de muestras de leche de tanque como para los grupos tecnológicos definidos en el **Apartado 9.4.**

La **Tabla 38** muestra los resultados del análisis de regresión entre el **tiempo de coagulación (RCT)** y las características de la leche, para la totalidad de las muestras del estudio (RCT Total) y para cada uno de los grupos tecnológicos (RCT-G1, RCT-G2, RCT-G3). El coeficiente de determinación para RCT-Total es de  $R^2=0,25$  ( $p<0,001$ ), siendo los estimadores estadísticamente significativos de la regresión: pH, los grupos microbianos cocos gram-positivos catalasa-negativos (CGPCN), esporas butíricas (BAB) y mesófilos totales (MESO), y el recuento de células somáticas de leche de tanque (RCST)

La estimación del tiempo de coagulación por grupos tecnológicos muestra diferencias entre ellos y con la totalidad de las muestras comentada anteriormente. La estimación para el grupo 2 y el grupo 3 (RCT-G2 y RCT-G3) tiene unos coeficientes de determinación ( $R^2$ ) incluso menores que para la totalidad de las muestras (RCT-Total): 0,11 y 0,18, respectivamente. Sin embargo, para el grupo 1, de coagulación y sinéresis rápida, el coeficiente de determinación es muy relevante ( $R^2=0,61$ ), siendo los estimadores de la regresión: pH y estafilococos totales (SC), aunque es el pH el que verdaderamente aporta el mayor peso ( $R^2=0,56$ ). Así, se evidencia una vez más la importancia del pH en la estimación de la calidad de la leche desde el punto de vista tecnológico. Pero también se pueden diferenciar las estimaciones para los grupos G1 y G2, ambos de coagulación rápida, siendo el parámetro de interés para RCT-G1 el pH, y para RCT-G2 los mesófilos totales, aunque la estimación en este último caso no es concluyente a la vista de su bajo  $R^2=0,11$ .

La **Tabla 39** muestra los resultados del análisis de regresión entre **la velocidad de endurecimiento de la cuajada ( $K_{20}$ )** y las características de la leche, para la totalidad de las muestras del estudio ( $K_{20}$ -Total) y para cada uno de los grupos tecnológicos ( $K_{20}$ -G1,  $K_{20}$ -G2,  $K_{20}$ -G3). El coeficiente de determinación para  $K_{20}$ -Total es bajo, de  $R^2=0,13$  ( $p<0,001$ ), siendo los estimadores estadísticamente significativos de la regresión: pH y los grupos microbianos coliformes totales (COLIT) y esporas butíricas (BAB). La regresión para los diferentes grupos tecnológicos presenta ciertas diferencias: el grupo 2 y 3 presentan  $R^2$  de la misma magnitud que para RCT-Total, mientras que el grupo 1 tiene un coeficiente de determinación algo superior ( $R^2=0,26$ ), siendo mesófilos totales y *Pseudomonas* spp. sus estimadores.

**Tabla 38. Estimaciones del tiempo de coagulación (RCT) en función de las características de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.**

RCT-TOTAL							
Término	Independiente	pH	CGPCN	BAB	MESO	RCST	MODELO
Estimador	-136,59	19,41	-2,40	3,78	-3,31	9,34	
R <sup>2</sup>		0,10	0,06	0,04	0,02	0,03	0,25
p-valor		***	***	**	**	**	***
RCT-G1							
Término	Independiente	pH	SC	MODELO			
Estimador	-106,67	20,45	-2,24				
R <sup>2</sup>		0,56	0,05	0,61			
p-valor		***	*	***			
RCT-G2							
Término	Independiente	MESO	MODELO				
Estimador	17,15	-2,75					
R <sup>2</sup>		0,11	0,11				
p-valor		**	**				
RCT-G3							
Término	Independiente	pH	BAB	PSEUDO	RCST	MODELO	
Estimador	-90,26	14,94	1,97	-1,64	4,85		
R <sup>2</sup>		0,09	0,04	0,03	0,02	0,18	
p-valor		**	**	*	*	***	

RCT-TOTAL, RCT-G1, RCT-G2 y RCT-G3: tiempo de coagulación de todas las muestras y por grupo de coagulación 1, 2 y 3, respectivamente; características de la leche (MESO: mesófilos, PSEUDO: *Pseudomonas* spp., CGPCN: cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB: esporas butíricas, SC: estafilococos totales, RCST: recuento de células somáticas de leche de tanque); \*\*\* $p < 0,001$ , \*\* $p < 0,01$ , \* $p < 0,05$ , <sup>NS</sup> $p > 0,05$ .



**Tabla 39.** Estimaciones de la velocidad de endurecimiento de la cuajada ( $K_{20}$ ) en función de las características de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.

<b>K<sub>20</sub>-TOTAL</b>					
Término	Independiente	COLIT	BAB	pH	MODELO
Estimador	-123,12	-2,83	5,35	18,63	
R <sup>2</sup>		0,05	0,05	0,03	0,13
p-valor		**	**	**	***
<b>K<sub>20</sub>-G1</b>					
Término	Independiente	MESO	PSEUDO		MODELO
Estimador	4,24	-0,64	0,53		
R <sup>2</sup>		0,16	0,10		0,26
p-valor		**	*		**
<b>K<sub>20</sub>-G2</b>					
Término	Independiente	CGPCN			MODELO
Estimador	17,15	-2,75			
R <sup>2</sup>		0,11			0,11
p-valor		**			**
<b>K<sub>20</sub>-G3</b>					
Término	Independiente	pH	BAB		MODELO
Estimador	-253,05	36,86	6,31		
R <sup>2</sup>		0,07	0,05		0,12
p-valor		**	**		**

K<sub>20</sub>-TOTAL, K<sub>20</sub>-G1, K<sub>20</sub>-G2 y K<sub>20</sub>-G3: velocidad de endurecimiento de todas las muestras y por grupos tecnológicos 1, 2 y 3, respectivamente; características de la leche (MESO: mesófilos; COLIT: coliformes totales, PSEUDO: *Pseudomonas* spp., CGPCN: cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB: esporas butíricas); \*\*\*p<0,001, \*\*p<0,01, \*p<0,05, <sup>NS</sup>p>0,05.

La **Tabla 40** muestra los resultados del análisis de regresión entre la **dureza de la cuajada a los treinta minutos** y las características de la leche, para la totalidad de las muestras del estudio (A<sub>30</sub>-Total) y para cada uno de los grupos tecnológicos para este parámetro (A<sub>30</sub>-G1 y A<sub>30</sub>-G2). El coeficiente de determinación para A<sub>30</sub>-Total es R<sup>2</sup>=0,20 (p<0,001), siendo los estimadores estadísticamente significativos de la regresión: mesófilos totales (MESO), los grupos microbianos cocos gram-positivos catalasa-negativos (CGPCN), las esporas butíricas (BAB), y el recuento de células somáticas de leche

de tanque (RCST). La regresión para los grupos tecnológicos presenta diferencias con la regresión para la totalidad de las muestras comentada anteriormente, siendo los coeficientes de determinación ( $R^2$ ) superiores tanto para  $A_{30}$ -G1 como para  $A_{30}$ -G2: 0,33 y 0,34, respectivamente. Sin embargo, existen también diferencias entre ellos, siendo para el Grupo 1: mesófilos totales y caseína total, con coeficientes de determinación similares ( $R^2$ ): 0,17 y 0,16, respectivamente, mientras que para el grupo 2 los estimadores son los mesófilos totales (MESO) y los grupos microbianos: esporas butíricas (BAB) y termodúricos (TERMO). En definitiva, la estimación de  $A_{30}$  a partir de las características de la leche estudiadas no es concluyente, siendo MESO el único estimador común a todas ellas.

La **Tabla 41** muestra los resultados del análisis de regresión entre la **dureza de la cuajada a los sesenta minutos** y las características de la leche, para la totalidad de las muestras del estudio ( $A_{60}$ -Total) y para cada uno de los grupos tecnológicos ( $A_{60}$ -G1,  $A_{60}$ -G2,  $A_{60}$ -G3). El coeficiente de determinación para  $A_{60}$ -Total es de  $R^2=0,12$  ( $p<0,001$ ) y los estimadores estadísticamente significativos de la regresión: las esporas butíricas (BAB), mesófilos totales (MESO) y caseína total (Ct). La regresión para los grupos tecnológicos también presenta diferencias con la regresión para la totalidad de las muestras comentada anteriormente. Para  $A_{60}$ -G1 la regresión no es significativa ( $p>0,05$ ), mientras que para  $A_{60}$ -G3 tiene un coeficiente de determinación muy bajo ( $R^2=0,15$ ). La estimación para  $A_{60}$ -G2 tiene un  $R^2=0,36$ , superior a los comentados anteriormente, siendo sus estimadores mesófilos totales (MESO), esporas butíricas (BAB) y caseína total (Ct), siendo la única regresión para  $A_{60}$  que interviene tanto MESO como caseína total, destacando el relativo peso que sobre este parámetro tecnológico tiene el contenido de esporas butíricas en la leche de tanque. Esto último evidenciaría la importancia de estos microorganismos, que además de estar implicados en el problema de la “hinchazón tardía” durante la maduración de los quesos de pasta prensada, podría tener una repercusión en el propio proceso de coagulación de la leche, mediante mecanismos que convendría estudiar en profundidad.

**Tabla 40.** Estimaciones de la dureza de la cuajada a los treinta minutos ( $A_{30}$ ) en función de las características de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.

$A_{30}$ -TOTAL						
Término	Independiente	MESO	CGPCN	RCST	BAB	MODELO
Estimador	36,09	6,06	3,94	-3,57	-10,49	
$R^2$		0,11	0,04	0,03	0,02	0,20
p-valor		***	**	**	*	***
$A_{30}$ -G1						
Término	Independiente	MESO	Ct			MODELO
Estimador	-28,83	3,35	9,10			
$R^2$		0,17	0,16			0,33
p-valor		**	**			**
$A_{30}$ -G2						
Término	Independiente	MESO	BAB	TERMO		MODELO
Estimador	-5,75	5,37	5,57	-7,01		
$R^2$		0,23	0,05	0,06		0,34
p-valor		***	*	*		***

$A_{30}$ -TOTAL,  $A_{30}$ -G1 y  $A_{30}$ -G2: dureza del coágulo a los 30 minutos de todas las muestras y por grupos tecnológicos 1, 2 y 3, respectivamente; características de la leche (Ct: caseína total, MESO: mesófilos; TERMO: termodúricos, CGPCN: cocos gram-positivos catalasa-negativos, BAB: esporas butíricas, RCST: recuento de células somáticas de leche de tanque); \*\*\* $p < 0,001$ , \*\* $p < 0,01$ , \* $p < 0,05$ , <sup>NS</sup> $p > 0,05$ .

**Tabla 41.** Estimaciones de la dureza de la cuajada a los sesenta minutos ( $A_{60}$ ) en función de las características de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.

A60-TOTAL						
Término	Independiente	BAB	MESO	Ct		MODELO
Estimador	10.,03	-4,06	2,61	4,46		
R²		0,05	0,04	0,03		0,12
p-valor		**	**	**		**
A60-G1						
Término	Independiente					MODELO
Estimador						
R²						
p-valor						NS
A60-G2						
Término	Independiente	MESO	BAB	Ct		MODELO
Estimador	-0,67	4,26	-5,76	6,83		
R²		0,17	0,11	0,08		0,36
p-valor		**	**	**		***
A60-G3						
Término	Independiente	BAB	pH	Ct	MESO	MODELO
Estimador	149,21	-4,82	-2,11	4,65	2,99	
R²		0,06	0,04	0,04	0,03	0,15
p-valor		**	*	*	*	***

$A_{60}$ -TOTAL,  $A_{60}$ -G1,  $A_{60}$ -G2 y  $A_{60}$ -G3: dureza del coágulo a los 60 minutos d de todas las muestras y por grupos tecnológicos 1, 2 y 3, respectivamente; características de la leche (Ct: caseína total, MESO: mesófilos, BAB: esporas butíricas); \*\*\* $p < 0,001$ , \*\* $p < 0,01$ , \* $p < 0,05$ ,  $^{\text{NS}}p > 0,05$ .

Por último, la **Tabla 42** muestra los resultados del análisis de regresión entre **el rendimiento en cuajada** y las características de la leche, tanto para la totalidad de las muestras del estudio (RCUA-Total) y para cada uno de los grupos tecnológicos diferenciados (RCUA-G1, RCUA-G2, RCUA-G3). En este caso, la regresión presenta un estimable coeficiente de determinación para RCUA-Total que es de ( $R^2=0,47$ ;  $p < 0,001$ ), siendo diferentes características de la leche los estimadores de la regresión: caseína total (Ct), grasa (G), cocos gram-positivos catalasa-negativos (CGPCN), psicrotrofos (PSICRO),

estafilococos totales (SC) y pH, aunque el mayor peso es para caseína total, con un  $R^2=0,27$ , siendo muy bajos los coeficientes del resto de componentes.

La estimación del rendimiento en cuajada por grupos tecnológicos presenta diferencias entre ellos y con la regresión para la totalidad de las muestras comentada anteriormente. Para el grupo 1, de coagulación y sinéresis rápida, el coeficiente de determinación de la regresión RCUA-G1 es algo superior ( $R^2=0,54$ ) al obtenido para la totalidad de las muestras, siendo sus estimadores estafilococos totales (SC), el porcentaje en grasa (Ct) y *Pseudomonas* spp. (PSEUDO), comprobándose el alto coeficiente para SC ( $R^2=0,31$ ); este resultado es interesante, ya que relaciona un grupo de muestras de leche que ocasionan una coagulación inapropiada con la presencia de estafilococos en leche. Para el grupo 2, también de coagulación rápida, el coeficiente de determinación de la regresión RCUA-G2 es elevado ( $R^2=0,66$ ), de hecho, el más alto de todos los casos estudiados; sus estimadores son el porcentaje de caseína total (Ct) y de grasa (G), así como el recuento de *Pseudomonas* spp. (PSEUDO), aunque el peso mayoritario de la estimación recae en la caseína total dado su  $R^2=0,48$ , demostrando la importancia para el rendimiento quesero del contenido en caseína de la leche, en un Grupo 2 de muestras que, además, es el que ha reportado el mayor nivel de rendimiento entre los grupos estudiados, y que se podría definir como el grupo con mejores resultados/habilidades frente al proceso de coagulación de la leche. El grupo 3, de coagulación lenta, tiene un coeficiente de determinación inferior a los grupos anteriores ( $R^2=0,37$ ), siendo también su estimador más importante la caseína total (Ct) ( $R^2=0,26$ ), ya que el resto de componentes (grasa, PSEUDO y PSICRO) apenas si aportan peso a la regresión. Así, se comprueba como la caseína total es muy importante en la estimación del RCUA, diferenciando además los grupos según el proceso de sinéresis, ya que no estima en el grupo 1, de coagulación y sinéresis rápida, siendo estafilococos totales los que tienen mayor importancia en este grupo 1.

En resumen, los resultados de la estimación de los parámetros tecnológicos en función de las características de la leche de tanque de oveja son muy relevantes, ya que diferencian entre las cualidades tecnológicas y el rendimiento de la coagulación. Se ha comprobado que para los parámetros de calidad de la cuajada (RCT,  $K_{20}$ ,  $A_{30}$  y  $A_{60}$ ) las estimaciones son bajas, salvo para algún grupo concreto de coagulación, reafirmando las conclusiones de otros estudios (Ferragina y cols., 2017; Caballero-Villalobos y cols., 2018b; Vacca y cols., 2019). Sin embargo, los resultados de la regresión del rendimiento en cuajada respecto a las características físico-químicas y microbiológicas de la leche de tanque, podrían utilizarse para estimar este parámetro cuantitativo del proceso de coagulación de la leche, dependiendo en gran medida de la caseína. Por ello, los sistemas de control de calidad de leche de oveja, e incluso los programas de cría de ovejas de aptitud lechera deberían incluir la caseína como uno de sus índices, útil tanto para determinar la aptitud tecnológica de la leche, como para la mejora genética de las razas de aptitud láctea como la raza ovina Manchega.

Tabla 42. Estimaciones del rendimiento de la cuajada (RCUA) en función de las características de leche de tanque de las ganaderías de raza ovina Manchega.

RCUA-TOTAL										
Término	Independiente	Ct	PSEUDO	G	pH	SC	PSICRO	CGPCN	MODELO	
Estimador	-2,98	0,41	-0,11	0,19	0,54	-0,16	0,08	-0,09		
R²		0,27	0,07	0,06	0,02	0,02	0,02	0,02	0,47	
p-valor		***	***	***	**	**	*	*	***	
RCUA-G1										
Término	Independiente	SC	G	PSEUDO	MODELO					
Estimador	2,85	-0,29	0,28	-0,21						
R²		0,31	0,16	0,08						
p-valor		**	**	*						
RCUA-G2										
Término	Independiente	Ct	PSEUDO	G	MODELO					
Estimador	-0,27	0,48	-0,19	0,22						
R²		0,48	0,11	0,07						
p-valor		***	**	**						
RCUA-G3										
Término	Independiente	Ct	PSEUDO	PSICRO	G	MODELO				
Estimador	-0,49	0,51	-0,19	0,11	0,14					
R²		0,26	0,05	0,04	0,02					
p-valor		***	**	**	*					

RCUA-TOTAL, RCUA-G1, RCUA-G2 y RCUA-G3: rendimiento de la cuajada de todas las muestras y por grupos tecnológicos 1, 2 y 3, respectivamente; características de la leche (G: grasa, Ct: caseína total, PSICRO: psicrotrotos, PSEUDO: *Pseudomonas* spp., CGPCN: cocos gram-positivos catalasa-negativos, SC: estafilococos totales); \*\*\***p<0,001**, \*\***p<0,01**, \***p<0,05**, <sup>ns</sup>**p>0,05**.

### **RESUMEN**

- 👤 Se ha comprobado que para los parámetros de calidad de la cuajada (RCT,  $K_{20}$ ,  $A_{30}$  y  $A_{60}$ ) las estimaciones estadísticas para predecir su comportamiento a partir de los parámetros de calidad de la leche son bajas.
- 👤 La estimación del rendimiento en cuajada en función a las características físico-químicas y microbiológicas de la leche de tanque es relevante para cualquiera de los grupos de coagulación considerados, dependiendo en gran medida del porcentaje en caseína.
- 👤 La contaminación por estafilococos y esporas butíricas parece estar relacionado con el comportamiento tecnológico de la leche, circunstancia que debería ser estudiada en profundidad.

### **SUMMARY**

- 👤 The statistical estimates for predicting the behavior of the quality parameters of the curd (RCT,  $K_{20}$ ,  $A_{30}$  and  $A_{60}$ ) from the rest of the milk quality parameters have been low.
- 👤 The estimation of curd yield based on the physico-chemical and hygienic-sanitary characteristics of bulk-tank milk is relevant for any of the coagulation groups considered, depending largely on the percentage of total casein.
- 👤 The contamination of staphylococci and spores of butyric acid bacteria appears to be related to the technological behavior of milk and should be studied in depth.





# PARTE V

## CONCLUSIONES





## CONCLUSIONES

1. Las ganaderías de oveja Manchega han evolucionado hacia una especialización en la producción lechera, estando su eficiencia condicionada por el aumento del censo de las explotaciones y el grado de implantación de tecnologías, en particular de las relacionadas con la alimentación animal.
2. La leche de tanque de oveja Manchega se caracteriza por su riqueza en los principales componentes físico-químicos (grasa y proteína), siendo relevante la información obtenida sobre el contenido en caseína, como indicador de aptitud tecnológica, y sobre la concentración de urea en leche, como estimador de eficiencia de la alimentación de las ovejas de ordeño, en un marco de avance en la ganadería de precisión.
3. Existen factores que condicionan la calidad físico-química de la leche de oveja Manchega, entre los que cabe destacar la época del año (primavera-verano vs otoño-invierno) y la pertenencia a la asociación de mejora de la raza (AGRAMA), así como factores ligados al nivel productivo y de manejo de la alimentación de las ovejas de ordeño.
4. La calidad higiénico-sanitaria de la leche de tanque de oveja podría estimarse a partir de indicadores microbianos. El recuento de mesófilos totales es un buen indicador de la calidad higiénico-sanitaria de la leche al estar correlacionado con otros grupos de microorganismos diferenciales (psicrotrofos, termodúricos, coliformes, pseudomonas, bacterias lácticas, cocos gran positivos coagulasa negativos) y con el recuento de células somáticas. Por otra parte el recuento de estafilococos y esporas butíricas podrían utilizarse como indicadores de seguridad de procesos y de control tecnológico en producción primaria, respectivamente.
5. Entre los factores que modifican la calidad higiénico-sanitaria (microbiológica diferencial y recuento celular) de la leche de oveja Manchega, destacan: la época del año, la pertenencia a la asociación de mejora de la raza (AGRAMA), el nivel productivo, manejo de la alimentación, las condiciones higiénicas de la explotación, manejo del ordeño y conservación de la leche, la aplicación de protocolos de limpieza y desinfección, la revisión periódica de equipos de ordeño y lechería, la aplicación de tratamientos farmacológicos de secado o de desinfección de pezones tras el ordeño.
6. La composición de la leche, en tanque, condiciona su aptitud tecnológica: las coagulaciones más rápidas, con mayor consistencia y rendimiento se relacionan con leche rica en principales componentes de la leche. Se estima que la caseína en buen

indicador de la aptitud tecnológica de la leche, al presentar mayor relación con los parámetros tecnológicos que el resto de componentes, por lo que sería muy útil su inclusión en los sistemas de control de calidad de la leche, así como en los programas de cría como objetivo de mejora de las razas ovinas lecheras.

7. La microbiología diferencial determina la aptitud tecnológica de la leche de tanque: el aumento de la carga microbiana de la leche (mesófilos y microorganismos de origen higiénico-ambiental: coliformes, *Pseudomonas* spp., bacterias lácticas, etc.), mediada por un proceso de acidificación de la misma, provoca una formación rápida de la cuajada y un menor rendimiento.
8. La relación observada entre los índices colorimétricos y los parámetros tecnológicos de la leche de oveja podría permitir el desarrollo de una herramienta de análisis sencilla y eficaz para predecir la aptitud tecnológica de la leche de tanque.
9. La diferenciación de tres tipos de coagulación, en base al tiempo de coagulación y a la dureza de la cuajada, han permitido determinar una tipología de leche (Grupo 2: 25% de las muestras estudiadas) de alto contenido en grasa y proteína, y niveles moderados de gérmenes, que presentan coagulaciones rápidas, así como un endurecimiento progresivo y mayor rendimiento de la cuajada. La posibilidad de determinar el rendimiento en cuajada, dependiente en gran medida del porcentaje en caseína, es interesante para estimar la eficiencia económica en la elaboración de queso.
10. La calidad de la leche de oveja no puede ser evaluada, de forma independiente, en función de su composición, calidad higiénico-sanitaria o calidad tecnológica, sino que ha de ser valorada integrando todas estas características, teniendo en cuenta los factores relacionados con el sistema de producción y de manejo de las ganaderías, ya que condicionan la calidad integral de la leche como materia prima de calidad contrastada para la elaboración de quesos.

## CONCLUSIONS

1. The Manchega sheep farms have evolved toward a specialization in dairy production, being their efficiency conditioned by the census of the farm and the degree of implementation of technologies, in particular those relating to animal feeding.
2. Manchega sheep's bulk-tank milk is characterized by its richness in the main physico-chemical components (fat and protein), being important the information obtained about the content of casein, as an indicator of technological aptitude, or the concentration of urea in milk, as an estimator of feeding efficiency for dairy sheep, in a framework process in precision farming.
3. There are factors that condition the physico-chemical quality of Manchega sheep's milk, such as the time of year (spring-summer vs autumn-winter), the membership in the National Association of Selected Sheep Breeders of Manchega Breed (AGRAMA), the level of milk production or feeding management of dairy sheep (the use of group-feeding, feeding by-products, etc.).
4. The hygienic-sanitary quality of sheep's bulk-tank milk should be estimated on the basis of microbial indicators. Total bacterial count is a good indicator of the hygienic-sanitary quality of bulk-tank milk as it is correlated with other differential microbial groups studied (psychrotrophs, thermotolerants, coliforms, *Pseudomonas* spp., lactic acid bacteria, gram-positive-catalase-negative cocci) and bulk-tank milk somatic cell counts. However, due to the lower relation between total bacterial count and staphylococci count or butyric acid bacteria spores, the latter could be used as indicators of process safety and technological control in primary production, respectively.
5. There are factors that conditions the hygienic-sanitary quality (differential microbiology and somatic cell counts) of Manchega sheep's milk, such as the time of year, the membership in the National Association of Selected Sheep Breeders of Manchega Breed (AGRAMA), level of milk production, feeding management, hygienic conditions of farm, milking management and preservation of bulk-milk, application of cleaning and disinfection protocols, periodic review of milking parlor and milk house, the application of pharmacological treatments for drying or disinfecting nipples after milking.
6. The composition of bulk-tank milk conditions its technological aptitude: the faster coagulations, with greater consistencies and curd yields are related to milk rich in the main components of milk. Casein is considered to be the best indicator of the technological suitability of milk, since it is more closely related to technological

parameters than the rest of the components of milk. Thus, it would be useful to include casein in quality control systems, as well as in breeding programmes, as an objective for the improvement of dairy sheep breeds.

7. Differential microbiology determines the technological suitability of bulk-tank milk: the increase in the microbial load of bulk-tank milk (total bacterial counts and microorganisms of hygienic-environmental origin: coliforms, *Pseudomonas* spp., lactic acid bacteria, etc.), which is mediated by a process of acidification thereof, causes a fast formation of the curd and lower curd yield.
8. The observed relationship between the colorimetric indices and technological parameters of sheep's milk could allow the development of a simple and effective analytical tool for predicting the technological suitability of bulk-tank milk.
9. The differentiation of three types of coagulation, based on rennet clotting time and curd firmness, have allowed to determine a milk typology (Group 2: 25% of the samples studied) with high fat and protein contents, and moderate microbial load, which show fast coagulation, as well as progressive hardening and higher yield of curd. The possibility of determine curd yield, largely dependent on the percentage of casein, is interesting for estimating the economic efficiency in cheese making.
10. The quality of sheep's milk cannot be assessed independently on the basis of its physico-chemical composition, hygienic-sanitary or technological quality, but it should be estimated integrating all these characteristics as a whole, and taking into account factors related to the production and management system of dairy farms, since they determine the integral quality of milk as a raw material of proven quality for cheese making.



# PARTE VI

## BIBLIOGRAFÍA







- Abilleira, E., Virto, M., Nájera, A.I., Salmerón, J., Albisu, M., Pérez-Elortondo, F.J., Ruiz de Gordo, J.C. de Renobales, M., Barron, L.J.R. 2010. Effects of seasonal changes in feeding management under part-time grazing on the evolution of the composition and coagulation properties of raw milk from ewes. *Journal of Dairy Science*, 93: 3902-3909.
- Alais, C.H. 1985. *Ciencia de la leche: Principios de técnica lechera*. Editorial Reverté, Barcelona, España. 873 pp.
- Albenzio, M., Taibi, L., Muscio, A., Sevi, A. 2002. Prevalence and etiology of subclinical mastitis in intensively managed flocks and related changes in the yield and quality of ewe milk. *Small Ruminant Research*, 43: 219-226.
- Albenzio, M., Caroprese, M., Santillo, A., Marino, R., Taibi, L., Sevi, A. 2004. Effects of somatic Cell Count and Stage of Lactation on the Plasmin Activity and Cheese-Making Properties of Ewe Milk. *Journal of Dairy Science*, 87: 533-542.
- Albenzio, M., Caroprese, M., Santillo, A., Marino, R., Muscio, A., Sevi, A. 2005. Proteolytic patterns and plasmin activity in ewe's milk as affected by somatic cell count and stage of lactation. *Journal of Dairy Research*, 72: 86-92.
- Albenzio, M., Santillo, A., Caroprese, M., d'Angelo, F., Marino, R., Sevi, A. 2009. Role of endogenous enzymes in proteolysis of sheep milk. *Journal of Dairy Science*, 92:79-86.
- Alexandraki, V., Kazou, M., Angelopoulou, A., Arena, M.P., Capozzi, V., Russo, P., Fiocco, D., Spano, G., Papadimitriou, K., Tsakalidou, E. 2016. The Microbiota of Non-cow milk and products. En: Tsakalidou, E. y Papadimitriou, K. (Eds.), *Non-Bovine Milk and Milk products* (pp. 117-159), London, UK: Academic Press.
- Alexopoulos, A., Tzatzimakis, G., Bezirtzoglou, E., Plessas, S., Stavropoulou, E., Sinapis, E., Abas, Z. 2011. Microbiological quality and related factors of sheep milk produced in farms of NE Greece. *Anaerobe* 17: 276-279.
- Ali, A. K. A., Shook, G.E. 1980. An optimum transformation for somatic-cell concentration in milk. *Journal of Dairy Science*, 63: 487-490.
- Allen, J.C. 1990. Milk synthesis and secretion rates in cows with milk composition changed by oxytocin. *Journal of Dairy Science*, 73: 975-984.
- Amagliani, G., Petruzzelli, A., Carloni, E., Tonucci, F., Foglini, M., Micci, E., Ricci, M., Di Lullo, S., Rotundo, L., Brandi, G. 2016. Presence of *Escherichia coli* O157, *Salmonella* spp., and *Listeria monocytogenes* in Raw Ovine Milk Destined for Cheese Production and Evaluation of the Equivalence between the Analytical Methods Applied. *Foodborne Pathogens and Disease*, 13 (11): 626-632.
- Anema, S.G., Li, Y. 2003. Effect of pH on the association of denatured whey proteins with casein micelles in heated reconstituted skim milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 1640-1646.
- Anifantakis, E.M., Rosakis, B., Ramou, C. 1980. *Travaux Scientifiques de l'Institut Technologique Supérieur des Industries Alimentaires* (Scientific work of the Technology Institut for Nutrition Industries). Plovdiv, Bulgaria, Tomo, XXVII, CB1.
- Anifantakis, E.M. 1986. Comparison of the physico-chemical properties of ewe's and cow's milk. En: *Proceedings of the International Dairy Federation Seminar on Production and Utilization of Ewe's and Goat's Milk*. Atenas, Grecia, 23-25 Septiembre 1985. *Bulletin of the International Dairy Federation* nº 202: 42-53.
- Antunac, N., Kalot, S., Samarzija, D., Mioc, B., Pecina, B., Mikulec, N., Havranek, J., Pavic, V. 2007. Influence of some non-genetic parameters on production and quality of milk East-Friesian sheep in Croatia. En: *Special Issue IDF 5th International Symposium on challenge to Sheep and Goats Milk Sectors* (0801/Part 1), pp. 108-109.

- Arias, C. 2013. Recuento y caracterización de *Clostridium* spp. en la ración unifeed y en la leche en relación con las condiciones higiénico-sanitarias y de manejo de las ganaderías de oveja Manchega. Tesis Doctoral, ETSIA, Universidad de Castilla-La Mancha, 218 pp.
- Arias, C., Oliete, B., Seseña, S., Jiménez, L., Pérez-Guzmán, M.D., Arias, R. 2013. Importance of on-farm management practices on lactate fermenting *Clostridium* spp. spore contamination of Manchega ewe milk: Determination of risk factors and characterization of *Clostridium* population. *Small Ruminant Research*, 111: 120-128.
- Arias, C., Oliete, B., Seseña, S., Jiménez, L., Palop, Ll., Pérez-Guzmán, M.D., Arias, R. 2016. Importance of on-farm management practices on lactate-fermenting *Clostridium* spp. spore contamination of total mixed ration of Manchega ewe feeding. Determination of risk factors and characterization of *Clostridium* population. *Small Ruminant Research*, 139: 39-45.
- Arias, R., Gallego, R., Calcerrada, A., Altares, S., Pérez-Guzmán, M.D., Montoro, V., Gallego, L. 1994. Problemática más frecuente del aparato mamario y sistemas de lucha en ganaderías inscritas en la Denominación de Origen Queso Manchego. En: libro de actas de las XIX Jornadas Científicas de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia, 22-24 de septiembre. Burgos, España, pp. 287-291.
- Arias, R. 2009. Recuento de células somáticas y calidad de la leche en Castilla-La Mancha. Tesis Doctoral, ETSIA, Universidad de Castilla-La Mancha, 211 pp.
- Arias, R., Oliete, B., Arias, C., Montoro, V., Gallego, R., Pérez-Guzmán, M.D. 2011. Estimación del estado de la sanidad mamaria de las ganaderías de raza ovina Manchega mediante el recuento de células somáticas de leche de tanque. En: libro de actas del XXXVI Congreso de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia, 6-7 de octubre. San Sebastián, España, pp. 221-224.
- Arias, R., Oliete, B., Ramón, M., Arias, C., Gallego, R., Montoro, V., Gonzalo, C., Pérez-Guzmán, M.D. 2012. Long-term study of environmental effects on test-day somatic cell count and milk yield in Manchega sheep. *Small Ruminant Research*, 106: 92-97.
- Arias, R., Jiménez, L., Oliete, B., Gallego, R., Montoro, V., Pérez-Guzmán, M.D. 2015. El recuento de células somáticas de leche de tanque. En: libro de actas de las XVI Jornadas sobre Producción Animal AIDA, 19-21 de mayo. Zaragoza, España, pp. 75-77.
- Ariznabarreta, A. 1999. El recuento celular como método indirecto de diagnóstico de mamitis subclínicas en el ganado ovino de raza Churra. Tesis Doctoral, Universidad de León, 228 pp.
- Ariznabarreta, A., Gonzalo, C., San Primitivo, F. 2002. Microbiological Quality and Somatic Cell Count of Ewe Milk with Special Reference to Staphylococci. *Journal of Dairy Science*, 85: 1370-1375.
- Arslan, S., Eyi, A., Özdemir, F. 2011. Spoilage potentials and antimicrobial resistance of *Pseudomonas* spp. isolated from cheeses. *Journal of Dairy Science*, 94 (12): 5851-5856.
- Assenat, L. 1991. Características generales de la leche de oveja. En: Luquet, F.M., Keilling, J., y De Wilde, R. (Eds.), *Leche y Productos Lácteos – vaca, oveja y cabra* (pp. 277-339), Zaragoza, España: Editorial Acribia.
- Auldist, M.J., Coats, S., Sutherlands, B.J., Mayes, J.J., McDowell, G.H., Rogers, G.L. 1996 Effects of somatic cell count and stage of lactation on raw milk composition and the yield and quality of Cheddar cheese. *Journal of Dairy Research*, 63: 269-280.
- Auldist, M.J., Johnston, K.A., White, N.J., Fitzsimons, W.P., Boland, M.J. 2004. A comparison of the composition, coagulation characteristics and cheesemaking capacity of milk from Friesian and Jersey dairy cows. *Journal of Dairy Research*, 71: 51-57.
- Aureli, P., Franciosa, G., 2002. *Clostridium* spp. En: Roginski, H. y cols. (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Sciences*, London (pp. 456-463), London, UK: Academic Press.

- Badran, I., Alqaisi, R., Salman, M., Fatafta, M. 2014. The Effects of Feeding Silage on Assaf Sheep Milk Quality and Quantity. En: Bridging the gap between increasing knowledge and decreasing resources; 17-19 de septiembre, Tropentag, Praga, República Checa.
- Banks, J.M., Muir, D.D., Tamine, A.Y. 1984. Equations for estimation of the efficiency of Cheedar cheese production. *Dairy Industries International*, 49: 14-17.
- Banks, J.M. 2007. Cheese yield. En: McSweeney, P.L.H. (Ed.), *Cheese Problems Solved* (pp. 100-114), Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, UK: Woodhead Publishing.
- Barillet, F., 1985. Amélioration génétique de la composition de lait des brebis. L' exemple de la race Lacaune. Tesis Doctoral. INRA, Paris-Grignon, Francia, 144 pp.
- Barillet, F., Rupp, R., Mignon-Grasteau, S., Astruc, J.M., Jacquin, M. 2001. Genetic analysis for mastitis resistance and milk somatic cell score in French Lacaune dairy sheep. *Genetics Selection Evolution*, 33: 397-415.
- Barłowska, J., Sz wajkowska, M., Litwi ń czuk, Z., Król, J. 2011. Nutritional value and technological suitability of milk from various animal species used for dairy production. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10: 291-302.
- Barkema, H. W., Schukken, Y.H., Lam, T.J.G.M, Beiboer, M.L., Wilmink, H., Benedictus, G., Brand, A. 1998. Incidence of clinical mastitis in dairy herds grouped in three categories by bulk milk somatic cell count. *Journal of Dairy Science*, 81: 411-419.
- Baselga, M.L., Molina, P. 1991. Evolución de las fracciones nitrogenadas de la leche de oveja de raza Manchega durante el período de ordeño. *Anales de investigación del Master en Ciencias e Ingeniería de alimentos, UPV*, 1: 293-315.
- Bauman, D.E., Mather, I.H., Wall, R.J., Lock, A.L. 2006. Major advances associated with the biosynthesis of milk. *Journal of Dairy Science*, 89: 1235-1243.
- Bencini, R. 2002. Factors affecting the clotting properties of sheep milk. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82: 705-719.
- Bendelja, D., Antunac, N., Mikulec, N., Vnucec, I., Masek, T., Mikulec, Z., Havranek, J. 2009. Urea concentration in sheep's milk. *Mljekarstvo* 59 (1): 3-10.
- Benedet, A., Manuelian, C.L., Penasa, M., Cassandro, M., Righi, F., Sternieri, M., Galimberti, P., Zambrini, A.V., De Marchi, M. 2018. Factors associated with herd bulk milk composition and technological traits in the italian dairy industry. *Journal of Dairy Science*, 101:934-943.
- Bergonier, D., De Crémoux, R., Rupp, R., Lagriffoul, G., Berthelot, X. 2003a. Mastitis of dairy small ruminats. *Veterinary Research*, 34: 689-716.
- Bergonier, D., Berthelot, X. 2003b. New advances in epizootiology and control of ewe mastitis. *Livestock Production Science*, 79: 1-16.
- Berruga, M.I., Lozoya, S., Rubio, R., Castro, N., Molina, A. 2008. Estudio sobre las posibles causas de la presencia de residuos de antimicrobiano. En: *La Leche De Ovino Y Caprino* (pp. 102), Madrid, España: Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino (MARM).
- Bianchi, L., Bolla, A., Budelli, E., Caroli, A., Casoli, C., Pauselli, M., Duranti, E. 2004. Effect of Udder Health Status and Lactation Phase on the Characteristics of Sardinian Ewe milk. *Journal of Dairy Science*, 87: 2401-2408.
- Biswajit, R., Brahma, B., Ghosh, S., Pankaj, P.K., Mandal, G. 2011. Evaluation of Milk Urea Concentration as Useful Indicator for Dairy Herd Management: A Review. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances* 6: 1-19.
- Bittante, G. 2011. Modeling rennet coagulation time and curd firmness of milk. *Journal of Dairy Science*, 94: 5821-5832

- Bittante, G., Penasa, M., Cecchinato, A. 2012. Invited review: Genetics and modeling of milk coagulation properties. *Journal of Dairy Science*, 95: 6843-6870
- Bittante, G., Pellattiero, E., Malchiodi, F., Cipolat-Gotet, C., Pazzola, M., Vacca, G.M., Schiavon, S., Cecchinato, A. 2014. Quality traits and modeling of coagulation, curd firming, and syneresis of sheep milk of Alpine breeds fed diets supplemented with rumen-protected conjugated fatty acid. *Journal of Dairy Science*, 97: 4018-4028.
- Bittante, G., Cipolat-Gotet, C., Malchiodi, F., Sturaro, E., Tagliapietra, F., Schiavon, S., Cecchinato, A. 2015. Effect of dairy farming system, herd, season, parity and days in milk on modeling of coagulation, curd firming and syneresis of bovine milk. *Journal of Dairy Science*, 98: 2759-2774.
- Bittante, G., Cipolat-Gotet, C., Pazzola, M., Dettori, M.L., Vacca, G.M., Cecchinato, A. 2016. Genetic analysis of coagulation properties, curd firming modeling, milk yield, composition, and acidity in Sarda dairy sheep. *Journal of Dairy Science*, 100: 1-10.
- Bobbo, T., Ruegg, P.L., Stocco, G., Fiore, E., Ganesella, M., Morgante, M., Pasotto, D., Bittante, G., Cecchinato, A. 2017. Associations between pathogen-specific cases of subclinical mastitis and milk yield, quality, protein composition, and cheese-making traits in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100: 4868-4883.
- Bocquier, F., Guillouet, P., Barillet. 1995. Alimentation hivernale des brebis laitières: intérêt de la mise en lots. *INRA Productions Animales*, 8: 19-28.
- Bocquier, F., Caja, G. 2001. Production et composition du lait de brebis: effets de l'alimentation. *INRA Productions Animales*, 14: 129-140.
- Bocquier, F., González-García, E. 2010. Sustainability of ruminant agricultura in the new context: feeding strategies and features of animal adaptability into the necessary holistic approach. *Animal*, 4 (7): 1258-1273.
- Bolovolta, S., Romanzin, A., Corazzin, M., Spanghero, M., Aprea, E., Gasperi, F., Piasentier, E. 2014. Volatile compounds and sensory properties of Montasio cheese made from the milk of Simmental cows grazing on alpine pastures. *Journal of Dairy Science*, 97(12): 7373-7385.
- Bonnano, A., Tornambè, G., Bellina, V., De Pasquale, C., Mazza, F., Maniaci, G., Di Grigoli, A. 2013. Effect of farming system and cheesemaking technology on the physicochemical characteristics, fatty acid profile, and sensory properties of Caciocavallo Palermitano cheese. *Journal of Dairy Science*, 96: 710-724.
- Bosshard, P.P., Abels, S., Altwegg, M., Böttgere, E.C., Zbinden, R. 2004. Comparison of Conventional and Molecular Methods for Identification of Aerobic Catalase-Negative Gram-Positive Cocci in the Clinical Laboratory. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(5): 2065-2073.
- Bouchard, D.S., Seridan, B., Saraoui, T., Rault, L., Germon, P., Gonzalez-Moreno, C., Nader-Macias, F.M.E., Baud, D., François, P., Chuat, V., Chain, F., Langella, P., Nicoli, J., Le Loir, Y., Even, S. 2015. Lactic Acid Bacteria Isolated from Bovine Mammary Microbiota: Potential Allies against Bovine Mastitis. *PLoS ONE* 10(12): e0144831.
- Boyazoglu, J., Morand-Fehr, P. 2001. Mediterranean dairy sheep and goat products and their quality. A critical review. *Small Ruminant Research*, 40: 1-11.
- Bradley, A. J., Leach, K.A., Breen, J.E., Green, L.E., Green, M.J. 2007. Survey of the incidence and aetiology of mastitis on dairy farms in England and Wales. *Veterinary Record*, 160: 253-257.
- Bramley, A.J., McKinnon, C.H., 1990. The microbiology of raw milk. En: Robinson, R.K. (Ed.), *Dairy Microbiology*, Vol. 1 (pp. 163-208), London, UK: Elsevier Science Publishers.
- Bramley, A.J., Cullor, J.S., Erskine, R.J., Fox, L.K., Harmon, R.J., Hogan, J.S., Nickerson, S.C., Oliver, S.P., Smith, L.K., Sordillo, L.M. 1996. Current Concepts of Bovine Mastitis. National Mastitis Council, Inc., Madison, WI.

- Broderick, G. A., Clayton, M.K. 1997. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. *Journal of Dairy Science*, 80: 2964–2970.
- Buffa, M.N., Trujillo, A.J., Pavia, M., Guamis, B. 2001. Changes in textural, microstructural, and colour characteristics during ripening of cheeses made from raw, pasteurized or high-pressure-treated goats' milk. *International Dairy Journal*, 11(11): 927-934.
- Burriel, A. R. 1997. Dynamics of intramammary infection in the sheep caused by coagulase-negative staphylococci and its influence on udder tissue and milk composition. *Veterinary Research*, 140: 419–423.
- Burriel, A. R., Wagstaff, A. 1998. The influence of ewe intramammary infection caused by coagulase-negative staphylococci on the milk constituents total protein, albumin, potassium and sodium. *Animal Science*, 67: 499–502.
- Bustos, D.P.J., Valderrama, W.B., Mesa, A.J.T. 2013. Small ruminants feeding and effect on cheese composition. En: Preedy, V.R., Watson, R.R., Patel, V.B. (Eds.), *Handbook of Cheese in Health: Production, Nutrition and Medical Sciences Human Health Handbooks 6* (pp. 73-86). Wageningen, Holanda: Wageningen Academic Publishers, Wageningen.
- Caballero, R. 2001 Typology of cereal-sheep farming systems in Castile-La Mancha south-central Spain. *Agricultural Systems*, 68: 215-232.
- Caballero-Villalobos, J., Arias, R., McSweeney, P.L.H., Garzón, A. 2016. The effect of plasmin activity over rennet coagulation in ewe milk. En: *IDF International Symposium on Cheese Science and Technology & the IDF Symposium on Concentration and Drying Technologies of Dairy Products*, 11-13 Abril. Dublin, Ireland. Poster 46: 120 pp.
- Caballero-Villalobos, J., Figueroa, A., Xibraku, K., Angón, E., Perea, J.M., Garzón, A. 2018a. Multivariate analysis of the milk coagulation process in ovine breeds from Spain. *Journal of Dairy Science*, 101: 1-10.
- Caballero-Villalobos, J., Perea, J.M., Angón, E., Arias, R., Garzón, A. 2018b. Coagulation efficiency and its determinant factors: A case of study for Manchega ewe milk in the región of Castilla-La Mancha, Spain. *Journal of Dairy Science*, 101: 3878-3886.
- Caja, G., Bocquier, F. 2000. Effects of nutrition on the composition of sheep's milk. *Cahiers Options Méditerranéennes*, 52: 59-74.
- Calderon, F. B., Chaveau-Duriot, P., Pradel, B., Martin, B., Graulet, M., Doreau, P., Noziere, P. 2007. Variations in carotenoids, vitamins A and E, and colour in cow's plasma and milk following a shift from hay diet to diets containing increasing levels of carotenoids and vitamin E. *Journal of Dairy Science*, 90: 5651–5664.
- Campbell, J.R., Marshall, R.T. 1975. *The Science of Providing Milk for Man*. New York, USA: McGraw Hill Book Company, 801 pp.
- Cannas, A., Pes, A., Mancuso, R., Vodret, B., Nudda, A. 1998. Effect of dietary energy and protein concentration on the concentration of milk urea nitrogen in dairy ewes. *Journal of Dairy Science*, 81: 499–508.
- Cao, Y., Cai, Y., Hirakubo, T., Fukui, H., Matsuyama, H. 2011. Fermentation characteristics and microorganism composition of total mixed ration silage with local food by-products in different seasons. *Animal Science Journal*, 82: 259-266.
- Carloni, E., Petruzzelli, A., Amagliani, G., Brandi, G., Caverni, F., Mangili, P., Tonucci, F. 2015. Effect of farm characteristics and practices on hygienic quality of ovine raw milk used for artisan cheese production in central Italy. *Animal Science Journal*, 87: 591-599.
- Carr, F.J., Chill, D., Maida, N. 2002. The lactic acid bacteria: A literature survey. *Critical Reviews in Microbiology*, 28(4): 281-370.

- Carriedo, J.A., Gonzalo, C., El-Saeied, U.M., San Primitivo, F. 1988. La concentración de células somáticas en la leche ovina: parámetros genéticos y perspectivas de mejora. *Ovis*. 56: 71-78.
- Carta, A., Sanna, S.R., Casu, S. 1995. Estimation lactation curves and seasonal effects for milk, fat, and protein in Sarda dairy sheep with a test day model. *Livestock Production Science*, 44 (1): 37-44.
- Casado, P., García, J.A. 1985. La calidad de la leche y los factores que la influncian. *Industrias Lácteas Españolas*, nº 81, 298 pp.
- Castillo, M., Jordán, M.J., Godoy, A., Laencina, J., López, M.B. 2000. Kinetics of syneresis in fresh goat cheese. *Milchwissenschaft*, 55 (10): 566-569.
- Castillo, M. 2001. Predicción del tiempo de corte en la elaboración de queso mediante dispersión de radiación de infrarrojo próximo. Tesis Doctoral, Universidad de Murcia, 331 pp.
- Castillo, M., Payne, F.A., Hicks, C.L., Laencina, J., López, M. 2003. Effect of protein and temperature on cutting time prediction in goat's milk using an optical reflectance sensor. *Journal of Dairy Research*, 70: 205-215
- Castillo, M., Lucey, J.A., Payne, F.A. 2006. The effect of temperature and inoculum concentration on rheological and light scatter properties of milk coagulated by a combination of bacterial fermentation and chymosin. Cottage cheese-type gels. *International Dairy Journal*, 15: 131-146.
- Cecchinato, A., Penasa, M., De Marchi, M., Gallo, L., Bittante, G., Carnier, P. 2011. Genetic parameters of coagulation properties, milk yield, quality, and acidity estimated using coagulating and noncoagulating milk information in Brown Swiss and Holstein- Friesian cows. *Journal of Dairy Science*, 94:4205-4213.
- Cecchinato, A., Penasa, M., Cipolat-Gotet, C., De Marchi, M., Bittante, G. 2012a. Short communication: Factors affecting coagulation properties of Mediterranean buffalo milk. *Journal of Dairy Science*, 95: 1709-1713.
- Cecchinato, A., Ribeca, C., Penasa, M., Cipolat-Gotet, C., De Marchi, M., Maurmayr, A., Bittante, G. 2012b. Associations between single nucleotide polymorphisms in multiple candidate genes on milk yield, composition, coagulation properties and individual cheese yield in Brown Swiss cows. *Journal of Dairy Science*, 95(Suppl. 2): 402. (Abstr.)
- Cecchinato, A. 2013. Survival analysis as a statistical methodology for analyzing factors that affect milk coagulation time in Holstein- Friesian and Brown Swiss cows. *Journal of Dairy Science*, 96:5556-5564.
- Cempířiková, R. 2002. Psychrotrophic vs.total bacterial counts in balk milk samples. *Veterinary Medicine Czech*, 47: 227-233.
- Centi, V., Matteucci, F., Lepidi, A., Del Gallo, M., Ercole, C. 2017. Microbiological and biochemical aspects of inland Pecorino ABruzzese cheese. *Heliyon*, 3: e00258.
- Cerrato-Nutecal, 2015. Memoria Proyecto IDI PRE/917/2013 del Ministerio de Agricultura y Medio Ambiente "Mejora de la calidad tecnológica, físico-química e higiénico-sanitaria de las explotaciones ovinas de leche e implementación de medidas de gestión técnico-económica con el objeto de mejorar la rentabilidad de las mismas en las Cooperativas Quesos Cerrato S. Coop. y Nutrición Teo Calporc, S. Coop".
- Chambers, J.V. 2005. The microbiology of raw milk. En: Robinson, R.K. (Ed.), *Dairy Microbiology Handbook: The Microbiology of Milk and Milk Products* (pp. 39-90), Hoboken, NJ, EEUU: John Wiley & Sons.



- Chandan, R.C., Patel, D.A., Almeida, R.A., Oliver, S.P. 2009. Chapter 3. Mammary Gland and milk Biosynthesis: Nature's Virtual Bioprocessing Factory. En: Chandan, R.C., y cols. (Eds.), Dairy Processing and Quality Assurance (pp. 59-74), Oxford, UK: Wiley-Blackwell.
- Chatelain, Y., Aloui, J., Guggisbert, D., Bosset, J.O. 2003. La couleur du lait et des produits laitiers et sa mesure: Un article de synthèse (1972-2002). *Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene*, 94: 461-488.
- Chen, J., Lindmark-Mansson, H., Gorton, L., Akesson, B. 2003. Antioxidant capacity of bovine milk as assayed by spectrophotometric and amperometric methods. *International Dairy Journal*, 13: 927-935.
- Chenais, F., Richoux, R., Houssin, B. 2004. Nature des fourrages et qualité nutritionnelle de la matière grasse du lait. *Rencontres Recherches Ruminants*, 2004, 11: 71-74.
- Chi, D., Nakano, M., Yamamoto, K. 2004. Milk and milk products consumption in relationship to serum lipid levels: a community-based study of middle-aged and older population in Japan. *Central European Journal of Public Health*, 12: 84-87.
- Cicconi-Hogan, K.M., Gamroth, M., Richert, R., Ruegg, P.L., Stiglbauer, K.E., Schukken, Y.H. 2013. Risk factors associated with bulk tank standard plate count, bulk tank coliform count, and the presence of *Staphylococcus aureus* on organic and conventional dairy farms in the United States. *Journal of Dairy Science*, 96, 7578-7590.
- Cipolat-Gotet, C., Cecchinato, A., De Marchi, M., Penasa, M., Bittante, G. 2012. Comparison between mechanical and near-infrared methods for assessing coagulation properties of bovine milk. *Journal of Dairy Science*, 95: 6806-6819.
- Claeys, W.L., Cardoen, S., Daube, G., De Block, J., Dewettinck, K., Dierick, K., De Zutter, L., Huyghebaert, A., Imberechts, H., Thiange, P., Vandenplas, Y., Herman, L. 2013. Raw or heated cow milk consumption: Review of risks and benefits. *Food Control* 31: 251-262.
- Claps, S., Annicchiarico, G., Di Napoli M.A., Paladino, F., Giorgio, D., Sepe, L., Rossi, R., Di Trana, A. 2016. Native and Non-Native sheep breed differences in Canestrano Pugliese Cheese Quality: a Resource for a Sustainable Pastoral System. *Czech Journal Food Science*, 34 (4): 332-340.
- CNAOL. 2011. Microflore du lait cru. Vers une meilleure connaissance des écosystèmes microbiens du lait et de leurs facteurs de variation. Partie 1: Nature et quantité de microflore des laits. Wrote by: Nathalie Desmasures and Eric Beuvier. En: *Fromages de Terroirs* (réseau). Ouvrage collectif coordonné par Cécile Laithier (Institut de l'Élevage) Juillet 2011, 134 pp.
- Cogan, T.M. 2000. Cheese microbiology. En: Fox, P.F. et al., (Eds.), *Fundamentals of cheese science* (pp. 306-310), MD, USA: Aspen Publ., Gaithersburg.
- Colombari, G., Allegretti, A., Melani, D., Bettoni, B., Pecorari, M. 2005. Sviluppo di spore di clostridi enl terreno, negli alimenti zootecnici, nelle feci e nel latte di allevamenti a diverso livello evolutivo in aera parmigiano-reggiano. *Scienze e Tecnica Lattiero-Casearia*, 56 (5): 309-344.
- Constable, P.D., Hinchcliff, K.W., Done, S.H., Grünberg, W. 2017. Chapter 20: Diseases of the Mammary Gland. En: Constable, P., y cols. (Eds.), *Veterinary Medicine, Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs and Goats*, 11th Edition (pp. 1932), El Sevier Science.
- Contreras, A., Corrales, J.C., Sanchez, A., Sierra, D. 1997. Persistence of caprine intramammary pathogens throughout lactation. *Journal of Dairy Science*, 80: 2815-2819.
- Contreras, A., Sierra, D., Sánchez, A., Corrales, J.C., Marco, J.C., Paape, M.J., Gonzalo, C. 2007. Mastitis in small ruminants. *Small Ruminant Research*, 68: 145-153.
- Contreras, G.A., Rodríguez, J.M. 2011. Mastitis: Comparative Etiology and Epidemiology. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 16: 339-356.

- Costerton, J.W., Stewart, P.S., Greenberg, E.P. 1999. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, 284: 1318–1322.
- Coulon, J.B., Chilliard, Y., Rémond, B. 1991. Effets du stade physiologique et de la saison sur la composition chimique du lait de vache et ses caractéristiques technologiques (aptitude à la coagulation, lipolyse). *INRA Productions Animales*, 1991, 4 (3): 219-228.
- Coulon, J.B. 1994. Effets du stade physiologique et de la saison sur la composition chimique de lait de vache et ses caractéristiques technologiques. *Recueil de Medecine Veterinaire*, 170: 375-380.
- Coulon, J.B., Verdier, I., Pradel, P., Almendra, M. 1998. Effect of lactation stage on the cheesemaking properties of milk and the quality of Saint-Nectaire-type cheese. *Journal of Dairy Research*, 65: 295-305.
- Cousin, M.A. 1982. Presence and Activity of Psychrotrophic Microorganisms in Milk and Dairy Products: A Review. *Journal of Food Protection*, 45 (2): 172-207.
- Cullor, J.S. 1997. Risks and prevention of contamination of dairy products. *Revue scientifique et technique. International Office of Epizootics*, 16: 472-481.
- De Almeida, K.M., Bruzaroski, S.R., Zanol, D., De Melo, M., Dos Santos, J.S., Alegro, L.C.A., Botaro, B., De Santana, E.H.W. 2017. *Pseudomonas* spp. and *P. fluorescens*: population in refrigerated raw milk. *Ciencia Rural*, Santa Maria, 47 (01): e20151540.
- De Garnica, M.L., Santos, J.A., Gonzalo, C., 2011. Influence of storage and preservation on microbiological quality of silo ovine milk. *Journal of Dairy Science*, 94: 1922-1927.
- De Garnica, M.L., 2013a. Estudio bacteriológico de la leche de tanque de rebaños ovinos y caracterización de cepas de cocos gram-positivos catalasa-negativos y de *Mycoplasma Agalactiae*. Tesis Doctoral. Departamento de Producción Animal. Universidad de León. 134 pp.
- De Garnica, M.L., Gonzalo, C. 2013b. Resultados de los programas de vigilancia analítica de la leche de tanque de los rebaños del Consorcio: bacteriología diferencial. En: Programas de calidad, seguridad y certificación de la leche del consorcio de promoción del ovino, 131 pp.
- De Garnica, M.L., Linage, G., Carriedo, J.A., De La Fuente, L.F., García-Jimeno, M.C., Santos, J.A., Gonzalo, G. 2013c. Relationship among specific bacterial counts and total bacterial and somatic cell counts and factors influencing their variation in ovine bulk tank milk. *Journal of Dairy Science*, 96: 1021-1029.
- De Garnica, M.L., Linage, B., Carriedo, J.A., Santos, J.A., Gonzalo, C. 2013d. *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* prevalence in ovine bulk tank milk. *Small Ruminant Research*, 115: 108-112.
- De Jonghe, V., Coorevits, An., Van Hoorde, K., Messens, W., Van Landschoot, A., De Vos, P., Heyndricks, M. 2011. Influence of storage conditions on the growth of *Pseudomonas* species in refrigerated raw milk. *Applied and Environmental Microbiology*, January 2011: 460-470.
- De La Cruz, M., Serrano, E., Montoro, V., Marco, J., Romero, M., Baselga, R., Albizu, I., Amorena, B. 1994. Etiology and prevalence of subclinical mastitis in the Manchega sheep at mid-late lactation. *Small Ruminant Research*, 14: 175-180.
- De La Fuente, L.F., Barbosa, E., Carriedo, J.A., Gonzalo, C., Arenas, R., Fresno, J.M., San Primitivo, F. 2009. Factors influencing variation of fatty acid content in ovine milk. *Journal of Dairy Science*, 9: 3791-3799.
- De Marchi, M., Fagan, C.C., O'Donnell, C.P., Cecchinato, A., Dal Zotto, R., Cassandro, M., Penasa, M., Bittante, G. 2009. Prediction of coagulation properties, titratable acidity, and pH of bovine milk using mid-infrared spectroscopy. *Journal of Dairy Science*, 92: 423-432.



- De Marchi, M., Toffanin, V., Cassandro, M., Penasa, M. 2013. Prediction of coagulating and noncoagulating milk samples using mid-infrared spectroscopy. *Journal of Dairy Science*, 96: 4707-4715.
- De Oliveira, G.B., Favarin L., Luchese, R.H., McIntosh, D. 2015. Psychrotrophic bacteria in milk: How much do we really know?. *Brazilian Journal of Microbiology*, 46 (2): 313-321.
- De Rancourt, M., Fois, N., Lavin, P., Tchakérian, E., Vallerand, F. 2006. Análisis económico de las explotaciones de ganado ovino y caprino en los países de la Europa Mediterránea. En: libro de actas de las XXXI Jornadas científicas y X Internacionales de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia, 20-22 de Septiembre. Zamora, España, pp. 148-151.
- Décret N° 2012-1250 du 9 novembre 2012 relatif aux modalités de paiement du lait de vache, de brebis et de chèvre en fonction de sa composition et de sa qualité. *Journal Officiel de la République Française*, 11 novembre 2012, Texte 5 sur 33.
- Delavenne, E., Mounier, J., Déniel, F., Barbier, G., Le Blay, G. 2012. Biodiversity of antifungal lactic acid bacteria isolated from raw milk samples from cow, ewe and goat over one-year period. *International Journal of Food Microbiology*, 155: 185-190.
- Díaz, J.R. 2000. Estudio de diferentes condiciones de ordeño mecánico en ovejas de raza Manchega. Tesis Doctoral, Departamento de Ciencia Animal, Universidad Politécnica de Valencia. 186 pp.
- Díaz, J.R., Peris, C., Rodríguez, M., Molina, M.P., Fernández, N. 2004. Effect of Milking Pipeline Height on Machine Milking Efficiency and Milk Quality in Sheep. *Journal of Dairy Science*, 87: 1675-1683.
- Dogan, B., Boor, K.J. 2003. Genetic diversity and spoilage potential among *Pseudomonas* spp. isolated from fluid milk products and dairy processing plants. *Applied Environmental Microbiology*, 69 (1): 130-138.
- DOP Queso Manchego 2019. Denominación de Origen Protegida Queso Manchego. Memoria de actividades. Disponible en: <http://www.quesomanchego.es/>. Consultado: 29.05.2019.
- Dore, S., Fadda, A., Fresi, S., Denti, G., Puggioni, G., Cannas, E.A. 2007. *Pseudomonas Aeruginosa* Persistence in the Milking Machine: Healing Experiences. En: Special Issue of the International Dairy Federation 0801/Part 4, posters of IDF 5<sup>th</sup> International Symposium on the Challenge to sheep and goats milk sectors, 18-20 de Abril. Alghero – Sardinia, Italia, 131 pp.
- Driehuis, F. 2013. Silage and the safety and quality of dairy foods: a review. *Agricultural and Food Science*, 22: 16-34.
- Dubeuf, J.P., Le Jaouen, J.C. 2005. The sheep and goat dairy sectors in the European Union: present situation and stakes for the future. IDF SI 501:1–6. International Dairy Federation, Brussels, Belgium.
- Duranti, E., Casoli, C. 1991. Differences in nitrogen composition and lactodynamographic values of ewe's milk in relation to somatic cell content. *Zootecnica e Nutrizione Animale*, 17: 99-105.
- Duranti, E., Bolla, P., Caroli, A., Chiofalo, L., Di Stasio, L., Fortina, R., Martini, M., Piccolo, V., Zullo, A. 2003. Evaluation of ovine milk clotting aptitude. *Italian Journal of Animal Science*, 2: 89-95
- Eck, A. 1990. Capítulo 2: El desuerado del coagulo. En: Eck, A. (Ed.), *El Queso*, Barcelona, España: Omega, S.A., Ediciones, 512 pp.
- Elmoslemany, A.M., Keefe, G.P., Dohoo, I.R., Dingwell, R.T. 2009a. Microbiological quality of bulk tank raw milk in Prince Edward Island dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 92: 4239-4248.
- Elmoslemany, A. M., Keefe, G.P., Dohoo, I.R., Jayarao, B.M. 2009b. Risk factors for bacteriological quality of bulk tank milk in Prince Edward Island dairy herds. Part 2: Bacteria count-specific risk factors. *Journal of Dairy Science*, 92: 2644–2652.

- Elmoslemany, A.M., Keefe, G.P., Dohoo, I.R., Wichtel, J.J., Stryhn, H., Dingwell, R.T. 2010. The association between bulk tank milk analysis for raw milk quality and on-farm management practices. *Preventive Veterinary Medicine*, 95: 32-40.
- Emery, R.S. 1988. Milk fat depression and the influence of diet on milk composition. *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 4: 289-305.
- Emmons, D.B., Modler, H.W. 2010. A commentary on predictive cheese yield formulas. *Journal of Dairy Science*, 93: 5517-5537.
- Ercolini, D., Russo, F., Ferrocino, I., Villani, F. 2009. Molecular identification of mesophilic and psychrotrophic bacteria from raw cow's milk. *Food Microbiology*, 26: 228-231.
- Escolar, E. 2016. Producción, composición y características de la leche y del queso de oveja Guirra. Tesis Doctoral, Universidad Politécnica de Valencia, 191 pp.
- ESROM 2013. Memoria del Esquema de Selección de la raza ovina Manchega. Año 2012. 150 pp.
- ESROM 2018. Memoria del Esquema de Selección de la raza ovina Manchega. Año 2017. 146 pp. Disponible en: <http://www.agrama.org/>. Consultado: 10.02.2017.
- Esteban, C. 2003. Razas ganaderas españolas ovinas. Madrid: MAPA, 470 pp.
- Faccia, M., Trani, A., Gambacorta, G., Loizzo, P., Cassone, A., Caponio, F. 2015. Production technology and characterization of Fior di latte cheeses made from sheep and goat milks. *Journal of Dairy Science*, 98: 1402-1410.
- Facklam, R.R., Elliott, J.A. 1995. Identification, classification, and clinical relevance of catalase-negative, Gram-positive cocci, excluding the Streptococci and Enterococci. *Clinical Microbiology Reviews*, 8(4): 479-495.
- Fagundes, C.M., Fischer, V., Padilha da Silva, W., Carbonera, N., Ribeiro Araújo, M. 2006. Presence of *Pseudomonas* spp. in milking phases with different hygienic handling procedures and in refrigerated milk. *Ciência Rural*, 36: 568-572.
- FAO y FIL 2012. Guía de buenas prácticas en explotaciones lecheras. Directrices FAO: Producción y Sanidad Animal No. 8. Roma. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/015/ba0027s/ba0027s00.pdf>. Consultado: 31.05.2019.
- FAOSTAT, 2019. Food and Agriculture Organization of the United. Disponible en: <http://faostat.fao.org/beta/en/#home>. Consultado: 28.05.2019.
- Farnsworth R.J. 1993. Microbiological examination of bulk tank milk. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 9: 469-474.
- Farrell, H.M. Jr, Jimenez-Flores, R., Bleck, G.T., Brown, E.M., Butler, J.E., Creamer, L.K., Hicks, C.L., Hollar, C.M., Ng-Kwai-Hang, K.F., Swaisgood, H.E. 2004. Nomenclature of the proteins of cow's milk-Sixth Revision. *Journal of Dairy Science*, 87: 1641-1674.
- Farrokh, C., Jordan, K., Auvray, F., Glass, K., Oppegaard, H., Raynaud, S., Thevenot, D., Condron, R., De Reu, K., Govaris, A., Heggum, K., Heyndrickx, M., Hummerjohann, J., Lindsay, D., Mischczycha, S., Moussiegt, S., Verstraete, K., Cerf, O. 2013. Review of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and their significance in dairy production. *International Journal of Food Microbiology*, 162: 190-212.
- FEGA 2019. Fondo Español de Garantía Agraria O.A. Disponible en: <http://www.fega.es/>. Consultado: 28.05.2019.
- Feligini, M., Brambati, E., Panelli, S., Ghitti, M., Sacchi, R., Capelli, E., Capelli, E., Bonacina, C. 2014. One-year investigation of *Clostridium* spp. occurrence in raw milk and curd of Grana Padano cheese by the automated ribosomal intergenic spacer analysis. *Food Control*, 42, 71-77.
- Fenlon, D.R., Logue, D.N., Gunn, J., Wilson, J. 1995. A study of mastitis bacteria and herd management practices to identify their relationship to high somatic cell counts in bulk tank milk. *British Veterinary Journal*, 151: 17-25.

- Figueroa, A. 2015. Protocolo de análisis de muestras de leche. Laboratorio Lechero Para Pequeños Rumiantes. Universidad de Córdoba (España)..pp.
- Ferragina, A., Cipolat-Gotet, C., Cecchinato, A., Pazzola, M., Dettori, M.L., Vacca, G.M., Bittante, G. 2017. Prediction and repeatability of milk coagulation properties and curd-firming modeling parameters of ovine milk using Fourier-transform infrared spectroscopy and Bayesian models. *Journal of Dairy Science*, 100: 3526-3538.
- Firkins, J., Harvatine, D.I., Sylvester, J.T., Eastridge, M.L. 2002. Lactation performance by dairy cows fed wet brewers grains or whole cottonseed to replace forage. *Journal of Dairy Science*, 85: 2662-2668.
- Fortin, M., Messier, S., Paré, J., Higgins, R. 2003. Identification of catalase-negative, nonbeta-hemolytic, gram-positive cocci isolated from milk samples. *Journal of Clinical Microbiology*, 41: 106-109.
- Foschino, R., Invernizzi, A., Barucco, R., Stradiotto, K. 2002. Microbial composition, including the incidence of pathogens, of goat milk from the Bergamo region of Italy during a lactation year. *Journal of Dairy Research* 69: 213-225.
- Fotou, K., Tzora, A., Voidarou, Ch., Alexopoulos, A., Plessas, S., Avgeris, I., Bezirtzoglou, E., Akrida-Demertzi, K., Demertzis, P.G. 2011. Isolation of microbial pathogens of subclinical mastitis from raw sheep's milk of Epirus (Greece) and their role in its hygiene. *Anaerobe*, 17: 315-319.
- Fox, P.F., Law, J., McSweeney, P.L.H., Wallace, J. 1993. Biochemistry of cheese ripening. En: McSweeney, P.L.H. (Ed.), *Cheese: Chemistry, physics and microbiology*, Vol. 1, (pp. 389-438), London, UK: Chapman and Hall.
- Frayse, J., Lagriffoul, G., Bocquier, F., Barillet, F. 1996. Brebis laitières: impact de la structure du troupeau et autres facteurs d'élevage sur la composition chimique du lait livré. *INRA Productions Animales*, 9: 201-210.
- Frank, J.F. 1997. Milk and dairy products. En: Doyle, M.P., Beuchat, L.R., Montville, T.J. (Eds.), *Food microbiology, fundamentals and frontiers* (pp. 101-116 y 581-594), Washington, DC: American Society for Microbiology.
- Frank, J.F., Yousef, A.E. 2004. Chapter 08: Tests for Groups of Microorganisms. En: *Standard Methods for the Examination of Dairy Products*, American Public Health Association (APHA Press), pp. 570.
- Franz, C.M.A.P., Stiles, M.E., Schleifer, K.H., Holzapfel, W.H. 2003. Review article Enterococci in foods—a conundrum for food safety. *International Journal of Food Microbiology*, 88: 105-122.
- Fthenakis, G. C. 1994. Prevalence and aetiology of subclinical mastitis in ewes of southern Greece. *Small Ruminant Research*, 13: 293–300.
- Fuertes, J.A., Gonzalo, C., Carriedo, J.A., San Primitivo, F. 1998. Parameters of test day milk yield and milk components. *Journal of Dairy Science*, 81: 1300-1307.
- Furtado, M.M. 1990. *A arte e a ciencia do queijo*. São Paulo, Brasil: Editorial Globo, 297 pp.
- Gamboa, P.M. 2009. The epidemiology of drug allergy-related consultations in Spanish allergology services: *alergológica-2005*. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 9: 45-50.
- Garces, A.R., López, F.J., Bruckmaier, R.M. 2006. Milking machines on Chilean dairy farms and their effects on somatic cell count and milk yield: a field study. *Agricultura –Técnica*, 66 (1): 31-40.
- García, O., Calatayud, M., Gallego, R., Pérez-Guzmán, M.D., Arias, R. 2007. Evolución del Programa de mejora de la Calidad de la leche Cruda en ganaderías pertenecientes a la Asociación

- Nacional de Criadores de Ganado Ovino Selecto de Raza Manchega (AGRAMA). En: I Congreso Nacional de Zootecnia. Situación Actual y Futuro de las Razas Puras. FEAGAS.
- García-Pérez, F.J., Lario, Y., Fernández-López, J., Sayas, E., Pérez-Alvarez, J.A., Sendra, E. 2005. Effect of Orange Fiber Addition on Yogurt Color During Fermentation and Cold Storage. *Color research and application*, 30 (6): 457-463.
- Garde, S., Arias, R., Gaya, P., Nuñez, M. 2011. Occurrence of *Clostridium* spp. in ovine milk and Manchego cheese with late blowing defect: identification and characterization of isolates. *International Dairy Journal*, 21: 272-278.
- Garde, S., Gaya, P., Arias, R., Nuñez, M. 2012. Enhanced PFGE protocol to study the genomic diversity of *Clostridium* spp. isolated from Manchego cheeses with late blowing defect. *Food Control*, 28, 392-399.
- Garzón, A. 1996. Incidencia de las variantes genéticas de las proteínas lácteas sobre la aptitud tecnológica de la leche en ovejas de raza Manchega. Tesis Doctoral, Universidad de Córdoba, 301 pp.
- Gaya, P., Babín, M., Medina, M., Nuñez, M. 1999. Diversity among lactococci isolated from ewe's raw milk and cheese. *Journal of Applied Microbiology*, 87: 849-855.
- Gelasakis, A.I., Mavrogianni, V.S., Petridis, I.G., Vasileiou, N.G.C., Fthenakis, G.C. 2015. Mastitis in sheep - The last 10 years and the future of research. *Veterinary Microbiology*, 181: 136-146.
- Giangolini, G., Amatiste, S., Battisti, S., Boselli, C., Filipetti, F., Rosati, R., Fagiolo, A. 2004. Clotting properties of Sarda ewe's bulk milk coming from flocks raised in two province of the Latium region. En: Proceeding XVI congresso nazionale della società italiana di allevamento degli ovini e dei caprini (SIPAOC), 29 de septiembre. Siena, Italy.
- Giraffa, G. 2007. Enterococci and dairy products. En: Hui, Y.H., (Ed.), *Handbook of food products manufacturing*, Vol. 2, (pp. 85-97), NJ, USA: Wiley-Interscience.
- Glantz, M., Devold, T.G., Vegarud, G.E., Lindmark Mansson, H., Stalhammar, H., Paulsson, M., 2010. Importance of casein micelle size and milk composition for milk gelation. *Journal of Dairy Science*, 93: 1444-1451.
- Godden, S. M., Lissemore, K.D., Kelton, D.F., Leslie, K.E., Walton, J.S., Lumsden, J.H. 2001. Factors associated with milk urea concentrations in Ontario dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 84: 107-114.
- Goez Lopez, M., Vázquez García, M. J., Pena Camaño, P. 2004 Determinación y diferenciación de *Escherichia coli* y coliformes totales usando un mismo sustrato cromogénico. Laboratorio Central. Aquagest, Galicia.
- Gómez, M.J., Gallego, R., Hernández, G. Tavera, J.M., Pérez-Guzmán, M.D., Montoro, V. 1997. Primeros resultados de la aplicación del Programa de Control de Mamitis Subclínicas en ovino de raza Manchega. En: libro de actas de las VII Jornadas sobre Producción Animal ITEA. Volumen Extra, 18, Tomo II: 567-569.
- González, G., Villamediana, R., Rodríguez, L.A., Delgado, D., Arias, R., Garzón, A., Pérez-Guzmán, M.D., Asensio-Vegas, C., Bueno, F., Bodas, R. 2016. Calidad de leche de oveja: Relación entre parámetros físico-químicos y tecnológicos para la fabricación de Queso. En: libro de actas del XLI Congreso Nacional y XVII Congreso Internacional de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia, 14-16 de septiembre. Talavera de la Reina, España, pp. 192-197.
- Gonzalo, C., Gaudioso, V.S. 1983. Recuento celular en leche de oveja. Comparación entre ordeño mecánico y manual. En: III Symposium Internacional de Ordeño Mecánico de Pequeños Rumiantes. Valladolid, España, pp. 268-275.

- Gonzalo, C., Carriedo, J.A., Baro, J.A., San Primitivo, F. 1994. Factors influencing variation of test day milk yield, somatic cell count, fat and protein in dairy sheep. *Journal of Dairy Science*, 77: 1537-1542.
- Gonzalo, C. 1996. Microbiological and hygienic quality of ewe and goat milk, somatic cells and pathogens. En: *Production and Utilization of Ewes and Goats Milk*. IDF Special Issue, 96031/1996: 59.
- Gonzalo, C., Martínez, J.R., San Primitivo, F. 1998. Significación y métodos de valoración del recuento celular en la leche de oveja. En: *El recuento de células somáticas en la leche de oveja*. *Ovis* 56: 13-25.
- Gonzalo, C., Ariznabarreta, A., Carriedo, J.A., San Primitivo, F. 2002. Mammary pathogens and their relationship with somatic cell count and milk yield losses in dairy ewes. *Journal of Dairy Science*, 85: 1460-1467.
- Gonzalo, C., Tardaguila, J.A., De La Fuente, L.F., San Primitivo, F. 2004. Effects of selective and complete dry therapy on prevalence of intramammary infection and on milk yield in the subsequent lactation in dairy ewes. *Journal of Dairy Research*, 71: 33-38.
- Gonzalo, C., Carriedo, J.A., Blanco, M.A., Beneitez, E., Juárez, M.T., De La Fuente, L.F., San Primitivo, F. 2005. Factors of variation influencing bulk tank somatic cell count in dairy sheep. *Journal of Dairy Science*, 88: 969-974.
- Gonzalo, C., Carriedo, J.A., Beneitez, E., Juárez, M.T., De La Fuente, L.F., San Primitivo, F. 2006. Short Communication: Bulk Tank Total Bacterial Count in Dairy Sheep: Factors of Variation and Relationship with Somatic Cell Counts. *Journal of Dairy Science*, 89: 549-552.
- Gonzalo, C., Linage, B., Carriedo, J.A., Juárez, M.T., Beneitez, E., Martínez, A., De La Fuente, L.F. 2009. Short communication: Effect of dry therapy using an intramammary infusión on bulk tank somatic cell count in sheep. *Journal of Dairy Science*, 92: 156-159.
- Gonzalo, C., Carriedo, J.A., García-Jimeno, M.C., Pérez-Bilbao, M., de la Fuente, L.F. 2010. Factors influencing variation of bulk milk antibiotic residue occurrence, somatic cell count, and total bacterial count in dairy sheep flocks. *Journal of Dairy Science*, 93: 1587-1595.
- Gonzalo, C. 2013. *Programas de Calidad, Seguridad y Certificación de la Leche del Consorcio de Promoción del Ovino*. 131 pp.
- Gonzalo, C. 2017. Milk hygiene in small ruminants: A review. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 15(4): e05R02, 20 pp.
- Goudjil, H., Fontecha, J., Luna, P., De La Fuente, M.A., Alonso, L., Juárez, M. 2004. Quantitative characterization of unsaturated and trans fatty acids in ewe's milk fat. *Lait*, 84: 473-482.
- Griffiths, M.W., Phillips, J.D., Muir, D.D. 1987. Effect of low temperature storage on the bacteriological quality of raw milk. *Food Microbiology*, 4: 285-291.
- Guinee, T. P. 2003. Role of protein in cheese and cheese products. En: Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. (Eds.), *Advanced Dairy Chemistry, Vol. 1B, Proteins: Basic Aspects* (pp. 1.083-1.159), New York, EEUU: Springer.
- Guinee, T. P., Mulholland, E.O., Kelly, J., Callaghan, D. J. O. 2007. Effect of protein-to-fat ratio of milk on the composition, manufacturing efficiency, and yield of Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*, 90: 110-123.
- Haenlein, G.F.W., Wendorff, W.L. 2006. Sheep milk- production and utilization of sheep milk. En: Park. Y.W., Haenlein, G.F.W. (Eds.), *Handbook of Milk of Non-Bovine Mammals* (pp. 137-194), Oxford, UK and Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing Professional.
- Hantsis-Zacharov, E., Halpern, M. 2007. Culturable psychrotrophic bacterial communities in raw milk and their proteolytic and lipolytic traits. *Applied and Environmental Microbiology*, 73: 7162-7168.

- Hassan, S.H. 1995. Effects of crossing and environmental factors on production and some constituents of milk in Ossimi and Saidi sheep and their crosses with Chios. *Small Ruminant Research*, 18: 165-172.
- Hayes, M.C., Ralyea, R.D., Murphy, S.C., Carey, N.R., Scarlett, J.M., Boor, K.J. 2001. Identification and characterization of elevated microbial counts in bulk tank raw milk. *Journal of Dairy Science*, 84: 292-298.
- Heald, C.W. 1985. Milk collection. En: Larson, B.L. (Ed.), *Lactacion*, Ames, EEUU: The Iowa State University Press, 198 pp.
- Heeschen, W. 1987. Sanitary and health aspect of milk. En: Gravert, H.O. (Eds.), *World Animal Science*, C3. Dairy-Cattle Production. Elsevier Science Publishers, B.V., 173 pp.
- Henno, M., Ots, M., Jõudu, I., Kaart, T., Kärt, O. 2008. Factors affecting the freezing point stability of milk from individual cows. *International Dairy Journal*, 18: 210-215.
- Hilali, M., Iñiquez, L., Knaus, W., Schreiner, M., Rischkowsky, B., Wurzing, M., Mayer, H.K. 2011. Prospects for using nonconventional feeds in diets for Awassi dairy sheep in Syria. *Journal of Dairy Science*, 94: 3014-3024.
- Huck, J. R., Hammond, B.H., Murphy, S.C., Woodcock, N.H., Boor, K.J., 2007. Tracking spore-forming bacterial contaminants in fluid milk-processing systems. *Journal of Dairy Science*, 90: 4872-4883.
- IECLM, 2019. Información del Instituto Estadístico de Castilla-La Mancha. Disponible en: <http://www.jccm.es>. Consultado: 29.05.2019.
- Ikonen, T., Morri, S., Tyrisevä, A.M., Ruottinen, O., Ojala, M. 2004. Genetic and phenotypic correlations between milk coagulation properties, milk production traits, somatic cell count, casein content, and pH of milk. *Journal of Dairy Science*, 87: 458-467.
- ISO 4833:2003. Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the enumeration of microorganisms-Colony-count technique at 30 degrees C.
- ITIS, 2019. Integrated Taxonomic Information System. Disponible en: <https://www.itis.gov/>. Consultado: 03.06.2019.
- Jaeggi, J.J., Govindasamy-Lucey, S., Berger, Y.M., Johnson, M.E., McKusick, B.C., Thomas, D.L., Wendorff, W.L. 2003. Hard ewe's milk cheese manufactured from milk of three different groups of somatic cell counts. *Journal of Dairy Science*, 86: 3082-3089.
- Jaramillo, D.P. 2007. Aptitud quesera de la leche de oveja Guirra y efecto de la dieta sobre las características tecnológicas de la leche y del madurado del queso. Tesis Doctoral, Universidad Autónoma de Barcelona, 141 pp.
- Jaramillo, D.P., Zamora, A., Guamis, B., Rodríguez, M., Trujillo, A.J. 2008. Cheesemaking aptitude of two Spanish dairy ewe breeds: changes during lactation and relationship between physico-chemical and technological properties. *Small Ruminant Research*, 78: 48-55.
- Jaramillo, D.P., Buffa, M.N., Rodríguez, M., Pérez-Baena, I., Guamis, B., Trujillo, A.J. 2010. Effect of the inclusion of artichoke silage in the ration of lactating ewes on the properties of milk and cheese characteristics during ripening. *Journal of Dairy Science*, 93: 1412-1419.
- Jayaroo, B.M., Wang, L. 1999. A Study on the Prevalence of Gram-Negative Bacteria in Bulk Tank Milk. *Journal of Dairy Science*, 82: 2620-2624.
- Jayaroo, B.M., Pillai, S.R., Wolfgang, D.R., Griswold, D.R., Hutchinson, L.J. 2001. Herd level information and bulk tank analysis: Tools for improving milk quality and herd udder health. *Bovine Practice*, 35: 23-35.
- Jayaroo, B.M., Wolfgang, D.R. 2003. Bulk-tank milk analysis. A useful tool for improving milk quality and flock udder health. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 19: 75-92.



- Jayarao, B.M., Pillai, S.R., Sawant, A.A., Wolfgang, D.R., Hegde, N.V. 2004. Guidelines for monitoring bulk tank milk somatic cell and bacterial counts. *Journal of Dairy Science*, 87: 3561-3573.
- Jiménez, E., Delgado, S., Maldonado, A., Arroyo, R., Albújar, M., García, N., Jariod, M., Fernández, L., Gómez, A., Rodríguez, J.M. 2008. *Staphylococcus epidermidis*: a differential trait of the fecal microbiota of breast-fed infants. *BMC Microbiology*, 8: 143.
- Jiménez, L., Oliete, B., Arias, C., Garzón, A., Caballero, J., Romero, J., Pérez-Guzmán, M.D., Arias, R. 2013. Nuevas herramientas en los sistemas de control de calidad de leche de oveja: evaluación de la composición microbiológica y propiedades tecnológicas para la producción de queso. En: *Monografía: herramientas en los sistemas de control de calidad de leche* (pp. 32-43), León, España: Tierras Ovino.
- Jiménez, L., Oliete, B., Pérez-Guzmán, M.D., Arias, R. 2014. Study of the differential microbiological quality of sheep milk relative to the standard plate counts. *SERIES A. Mediterranean Seminars. Options Méditerranéennes. SERIES A: Mediterranean Seminars*, 108: 175-181.
- Jiménez-Márquez, S.A., Thibault, J., Lacroix, C. 2005. Prediction of moisture in cheese of commercial production using neural networks. *International Dairy Journal*, 15: 1156-1174.
- Johnson, M., Steele, J. 2013. Fermented dairy product. En: Doyle, M.P., Buchanan, R.L. (Eds), *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers* (pp. 581-594), Washington DC, EEUU: ASM Press.
- Johnson, R.G., Young, A.J. 2003. The association between milk urea nitrogen and DHI production variables in western commercial dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 86: 3008-3015.
- Jørgensen, H., Mørk, T., Rørvik, L. 2005. The occurrence of *Staphylococcus aureus* on a farm with small-scale production of raw milk cheese. *Journal of Dairy Science*, 88: 3810-3817.
- Joudu, I., Henno, M., Kaart, T., Pussa, T., Kart, O. 2008. The effect of milk protein contents on the rennet coagulation properties of milk from individual dairy cows. *International Dairy Journal*, 18: 964-967.
- Julien, M.C., Dion, P., Lafrenière, C., Antoun, H., Drouin, P. 2008. Sources of clostridia in raw milk on farms. *Applied and Environmental Microbiology*, 74 (38): 6348-6357.
- Jurado, J.J., Serrano, M., Montoro, V., Pérez Guzmán, M.D. 1997. Estimaciones de componentes de varianza y respuesta a la selección en la raza ovina Manchega mediante muestreo de Gibbs. *Producción y Sanidad Animal*, 12: 27-40.
- Kawęcka, A., Sosin-Bzducha, E. 2014. Seasonal changes of the chemical composition of cheese obtained from the milk of indigenous Polish breeds of sheep. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 23: 131-138.
- Kelly, A.L., McSweeney, P.L.H. 2003. Indigenous proteinases in milk. En: Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. (Eds.), *Advanced dairy chemistry, Vol. 1, Proteins*, (pp. 495-652), New York, EEUU: Kluwer Academic/Plenum Publishers.
- Kelly, A.L., Leitner, G., Merin, U. 2011. Milk quality and udder health-test methods and standards. En: Fuquay, J.W., Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Science*, 2nd ed., London, UK: Academic Press.
- Kirk, J., Mellenberger, R. 2011. Mastitis Control Program for *Pseudomonas* Mastitis in Dairy Cows. Disponible en: [https://milkquality.wisc.edu/wp-content/uploads/sites/212/2011/09/mastitis-control-program\\_pseudomonas-mastitis.pdf](https://milkquality.wisc.edu/wp-content/uploads/sites/212/2011/09/mastitis-control-program_pseudomonas-mastitis.pdf). Consultado: 15.12.2019.
- Klei, L., Yun, J., Sapru, A., Lynch, J., Barbano, D., Sears, P., Galton, D. 1998 Effects of milk somatic cell count on Cottage cheese yield and quality. *Journal of Dairy Science*, 81: 1205-1213.
- Koka, R., Weimer, B.C. 2001. Influence of growth conditions on heat stable phospholipase activity in *Pseudomonas*. *Journal of Dairy Research*, 68: 109-116.

- Kondyli, E., Svarnas, C., Samelis, J., Katsiari, M.C. 2012. Chemical composition and microbiological quality of ewe and goat milk of native Greek breeds. *Small Ruminant Research*, 103: 194-199.
- Koutsouli, P., Patounas, G., Massouras, Th., Bizelis, I., Politis, I. 2015. Plasmin-plasminogen system and milk coagulation properties of two Greek dairy sheep breeds. *Small Ruminant Research*, 124: 89-94.
- Kuchtík, J., K. Sustová, K., Urban, T., Zapletal, D. 2008. Effect of the stage of lactation on milk composition, its properties and the quality of rennet curdling in East Friesian ewes. *Czech Journal of Animal Science*, vol. 53(2): 55-63.
- Kuhnen, S., Moacyr, J.R., Trevisan, R., Pinheiro, L.C., Maraschin, M. 2013. Carotenoid content in cow milk from organic and conventional farms in Southern Brazil. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 11: 221-224.
- Lagriffoul, G., Barillet, F., Bergonier, D., Berthelot, X., Jacquin, M. 1999a. Relation entre les comptages de cellules somatiques du lait de troupeau et la prévalence des mammites subcliniques des brebis estimée avec les comptages de cellules somatiques individuels. En: Barillet, F., Zervas, N.P. (Eds.), *Proceedings of the Sixth International Symposium on the Milking of Small Ruminants: Milking and Milk Production of Dairy Sheep and Goats* (Wageningen Pers, Netherlands), 26 September-1 October 1998. Athens, Greece, pp. 151-156.
- Lagriffoul, G., Guitard, J.P., Arranz, J.M., Autran, P., Drux, B., Delmas, G., Gautier, J.M., Jaudon, J.P., Morin, E., Saby, C., Vacaresse, C., Van Quackebeke, E., Bocquier, F. 1999b. Influence du taux de couverture des besoins azotes des brebis laitières sur la production de lait et sa teneur en urée. *Recherches sur les Ruminants*, 6: 1661.
- Laird, D. T., A. Gambrel-Lenarz, F. M. Scher, T. E. Graham, and R. Reddy. 2004. Microbiological count methods. En: Wehr, H.M., Frank, J.F. (Eds.), *Standard Methods for the Examination of Dairy Products* (pp. 153-186). 17th ed., Washington DC, EEUU: Animal Public Health Association.
- Landau, S., Kababya, D., Silanikove, N., Nitsan, R., Lifshitz, L., Baram, H., Bruckental, I., Mabjeesh, S.J. 2005. The ratio between rumen degradable organic matter and crude protein may affect milk yield and composition in dairy sheep. *Small Ruminant Research*, 58: 115-122.
- Larsen, L. B., Rasmussen, M. D., Bjerring, M., Nielsen, J. H. 2004. Proteases and protein degradation in milk from cows infected with *Streptococcus uberis*. *International Dairy Journal*, 14: 899-907.
- Las Heras, A., Dominguez, L., Fernandez-Garayzabal, J.F. 1999. Prevalence and aetiology of subclinical mastitis in dairy ewes of the Madrid region. *Small Ruminant Research*, 32: 21-29.
- Le Bourhis, A.G., Saunier, K., Doré, J., Carlier, J.P., Chamba, J.F., Popoff, M.R., Tholozan, J.L. 2005. Development and Validation of PCR primers to assess the diversity of *Clostridium* spp. in cheese by temporal temperature gradient gel electrophoresis. *Applied and Environmental Microbiology*, 71: 29-38.
- Le Bourhis, A.G., Doré, J., Carlier, J.P., Chamba, J.F., Popoff, M.R., Tholozan, J.L. 2007. Contribution of *C. beijerinckii* and *C. sporogenes* in association with *C. tyrobutyricum* to the butyric fermentation in Emmental type cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 113: 154-163.
- Lee, K.H., Jung, M.Y., Kim, S.Y. 1998. Effects of ascorbic acid on the light-induced riboflavin degradation and color changes in milks. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 407-410.
- Legarra, A., Ugarte, E. 2001. Genetic parameters of milk traits in Latxa dairy sheep. *Animal Science*, 73: 407-412.



- Leitner, G., Chaffer, M., Caraso, Y., Ezra, E., Kababea, D., Winkler, M., Glickman, A., Saran, A. 2003. Udder infection and milk somatic cell count, NAGase activity and milk composition—fat, protein and lactose—in Israeli-Assaf and Awassi sheep. *Small Ruminant Research*, 49: 157-164.
- Leitner, G., Chaffer, M., Shamay, A., Shapiro, F., Merin, U., Ezra, E., Saran, A., Silakinove, N. 2004. Changes in milk composition as affected by subclinical mastitis in sheep. *Journal of Dairy Science*, 87:46-52.
- Leitner, G., Krifucks, O., Merin, U., Lavi, Y., Silanikove, N. 2006. Interactions between bacteria type, proteolysis of casein and physicochemical properties of bovine milk. *International Dairy Journal*, 16: 648-654.
- Leitner, G., Silanikove, N., Merin, U. 2008. Estimate of milk curd yield of sheep and goats with intramammary infection and its relation to somatic cell count. *Small Ruminant Research*, 74: 221-225.
- Leitner, G., Lavon, Y., Matzrafi, Z., Benun, O., Bezman, D. Merin, U. 2016. Somatic cell counts, chemical composition and coagulation properties of goat and sheep bulk tank milk. *International Dairy Journal*, 58: 9-13.
- Le Maréchal, C., Thiéry, R., Vautor, E., Le Loir, Y. 2011. Mastitis impact on technological properties of milk and quality of milk products—a review. *Dairy Science and Technology*, 91: 247-282.
- Lenoir, J., Schneid, N. 1990. La aptitud de la leche a la coagulación por el cuajo. En: Eck, A. (Ed.), *El queso*, II. Cap. 2 (3) (pp. 126-136), Barcelona, España: Ediciones Omega, S.A.
- Le Roux, Y. 1994. Qualité protéique des laits à la production: facteurs de variation et recherché d'indicateurs de protéolyse. Tesis Doctoral I.N.P.L., Nancy, Francia, 137 pp.
- Leroy, F., De Vuyst, L. 2004. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science and Technology*, 15: 67-78.
- Little, C.L., Rhoades, J.R., Sagoo, S.K., Harris, J., Greenwood, M., Mithani, V., Grant, K., McLauchlin, J. 2008. Microbiological quality of retail cheeses made from raw, thermized or pasteurized milk in the UK. *Food Microbiology*, 25: 304-312.
- Lombardi, G. 2005. Optimum management and quality pastures for sheep and goat in mountain áreas. *Options Méditerranéennes*, A-67: 19-29.
- López Galvez, G. 1993. Estudio del polimorfismo de las proteínas de leche de oveja de las razas Manchega y Segureña. Aptitud a la coagulación y rendimiento quesero. Tesis Doctoral, Universidad Complutense, Madrid, España, 228 pp.
- Lucas, A., Hulin, S., Michel, V., Agabriel, C., Chamba, J.F., Rock, E., Coulon, J.B. 2006. Relations entre les conditions de production du lait et les teneurs en composés d'intérêt nutritionnel dans le fromage: étude en conditions réelles de production. *INRA Productions Animales*, 19, 15-28.
- Lucey, J.A. 2002. Formation and Physical Properties of Milk Protein Gels. *Journal of Dairy Science*, 85: 281-294.
- Lucey, J.A., Johnson, M.E., Horne, D. 2003. Invited Review: perspectives on the basis of the Rheology and Texture Properties of cheese. *Journal of Dairy Science*, 86: 2725-2743.
- Lundberg, A., Nyman, A.K., Aspán, A., Börjesson, S., Ericsson Unnerstad, H., Persson Waller, K. 2016. Udder infections with *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae*, and *Streptococcus uberis* at calving in dairy herds with suboptimal udder health. *Journal of Dairy Science*, 99: 2102-2117.
- Maegenis, R.B., Schwinden, E., Beddin, C., Penteado, M., Silvio do Egito, A., Daguer, H. 2014. Rheological, physicochemical and authenticity assessment of Minas Frescal cheese. *Food Control*, 45: 22-28.

- Magnusson, M., Christiansson, A., Svensson, B. 2007. *Bacillus cereus* spores during housing of dairy cows: factors affecting contamination of raw milk. *Journal of Dairy Science*, 90: 2745-2754.
- Makovec, J.A., Ruegg, P.L. 2003. Results of milk samples submitted for microbiological examination in Wisconsin from 1994 to 2001. *Journal of Dairy Science*, 86: 3466-3472.
- Malacarne, M., Summer, A., Fosa, E., Formaggioni, P., Franceschi, P., Pecorari, M., Mariani, P. 2006. Composition, coagulation properties and Parmigiano-Reggiano cheese yield of Italian Brown and Italian Friesian herd milks. *Journal of Dairy Research*, 73: 171-177.
- Manca, M. G., Serdino, J., Gaspa, G., Urgeghe, P., Ibba, I., Contu, M., Fresi, P., Macciotta, N.P.P. 2016. Derivation of multivariate indices of milk composition, coagulation properties, and individual cheese yield in dairy sheep. *Journal of Dairy Science*, 99: 4547-4557
- Manfredini, M., Tassinari, M., Zarri, M.C. 1992. Psychochemical characteristics, somatic cell count and coagulation properties of milk from individual ewes from Emilia Romagna. *Scienza e tecnica lattiero-casearia*, 43: 113-126.
- Manuelian, C.L., Penasa, M., Giangolini, G., Boselli, C., Currò, S., De Marchi, M. 2019. Short communication: Fourier-transform mid-infrared spectroscopy to predict coagulation and acidity traits of sheep bulk milk. *Journal of Dairy Science*, 102: 1-6.
- MAPA 2019. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Disponible en: <https://www.mapa.gob.es/es/>. Consultado: 28.05.2019.
- Mariani, P., Pecorari, M. 1991. The role of the genetic variants of k-casein in the cheese production. *Scienza Tecnologia Latte Caseina*, 42: 255-285.
- Marco, J.C. 1994. Mastitis en la oveja Lacha: epidemiología, diagnóstico y control. Tesis Doctoral, Universidad de Zaragoza, España, 398 pp.
- Marenjak, T., Poljičak-Milas, N., Stojić, Z. 2004. Svrha određivanja koncentracije ureje u kravljem mlijeku. *Praxis veterinaria*, 52 (3): 233-241.
- Marogna, M., Rolesu, S., Lollai, S., Tola, S., Leori, G. 2010. Clinical findings in sheep farms affected by recurrent bacterial mastitis. *Small Ruminant Research*, 88: 119-125.
- Marozzi, S., De Santis, P., Lovari, S., Condoleo, R., Bilei, S., Marcianò, R., Mezher, Z. 2016. Prevalence and molecular characterisation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in raw milk cheeses from Lazio region, Italy. *Italian Journal of Food Safety*, 5: 4566.
- Marqués-Almeida, M., Gama, L.T., Caldeira, R.M., Matins, A.P.L. 2007. Effect of milk yield and lactation stage on the composition and milk clotting properties in Assaf ewes: En: Special Issue IDF 5<sup>th</sup> International Symposium on Challenge to Sheep and Goats Milk Sectors (0801/Part 1), pp. 127-128.
- Martemucci, G. and D'Alessandro, A.G. 2013. Progress in Nutritional and Health Profile of Milk and Dairy Products: A Novel Drug Target. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders – Drug Targets*, 13: 209-233.
- Martí, A. 2005. Efecto de las mastitis subclínicas y de las células somáticas sobre la producción y calidad de la leche de oveja de raza Manchega. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia, 207 pp.
- Martí-De Olives, A., Navarro-Ríos, M.J., Rubert-Alemán, J., Fernández, N., Molina, M.P. 2015. Composition, proteolysis indices and coagulating properties of ewe milk as affected by bulk tank somatic cell count. *Journal of Dairy Research*, 82: 344-349.
- Martin, B., Fedele, V., Ferlay, A., Grolier, P., Rock, E., Gruffat, D., Chilliard, Y. 2004. Effects of grass-based diets on the content of micronutrients and fatty acids in bovine and caprine dairy products. *Grassland Science in Europe*, 9: 876-886.
- Martínez-Sanmiguel, F. 2018. Gestión de los niveles de urea en la leche de ovino: causas y consecuencias. Disponible en: <https://www.oviespana.com/foro-nacional-de-ovino/xix->

- foro-actas/nutricion-y-sanidad/gestion-de-los-niveles-de-urea-en-la-leche-de-ovino-causas-y-consecuencias?acm=1780\_1136 . Consultado 14.05.2019.
- Martini, M., Mele, M., Scolozzi, C., Salari, F. 2008. Cheese making aptitude and the chemical and nutritional characteristics of milk from Massese ewes. *Italian Journal of Animal Science*, 7: 419-437.
- Matutinović, S., Krešimir Salajpal K., Kalit, S. 2014. Variation in nitrogen components of sheep milk in sub-Mediterranean area. *Mljekarstvo*, 64 (1): 27-33.
- Mavrogenis, A.P., Louca, A. 1980. Effect of different husbandry system on milk production of pure breed and crossbreed sheep. *Animal Production*, 31: 171-176.
- McDermott, A., Visentin, G., McParland, S., Berry, D.P., Fenelon, M.A., De Marchi, M. 2016. Effectiveness of mid-infrared spectroscopy to predict the color of bovine milk and the relationship between milk color and traditional milk quality traits. *Journal of Dairy Science* 99: 1-7.
- McMahon, D. J., Brown, R.J. 1982. Evaluation of Formagraph for comparing rennet solutions. *Journal of Dairy Science*, 65: 1639-1642.
- McMahon, D.J., Brown, R.J. 1984. Enzymic coagulation of casein micelles: A review. *Journal of Dairy Science*, 67: 919-929.
- Mele, M. 2009. Designing milk fat to improve healthfulness and functional properties of dairy products: from feeding strategies to a genetic approach. *Italian Journal of Animal Science*, 8 (Suppl. 2): 365-373.
- Meng, L., Zhang, Y., Liu, H., Zhao, S., Wang, J., Zheng, N. 2017. Characterization of *Pseudomonas spp.* and Associated Proteolytic Properties in Raw Milk Stored at Low Temperatures. *Frontiers in Microbiology*, 8: 2158.
- Merz, A., Stephan, R., Johler, S., 2016. *Staphylococcus aureus* isolates from goat and sheep milk seem to be closely related and differ from isolated detected from bovine milk. *Frontiers in Microbiology*, 7: 319.
- Mestdagh, F., Kerkaert, B., Cucu, T., De Meulenaer, B. 2011. Interaction between whey proteins and lipids during light-induced oxidation. *Food Chemistry* 126: 1190-1197.
- Milan, M. J., Caja, G., Gonzalez-Gonzalez, R., Fernandez-Perez, A.M., Such, X. 2011. Structure and performance of Awassi and Assaf dairy sheep farms in northwestern Spain. *Journal of Dairy Science*, 94: 771-784.
- Mohanty, D.P., Mohapatra, S., Misra, S., Sahu, P.S. 2016. Milk derived bioactive peptides and their impact on human health – A review. *Saudi Journal of biological Sciences*, 23: 577-583.
- Moioli, B., Contarini, G., Pariset, L., Marchitelli, C., Crisà, A., Catillo, G., Napolitano, F. 2012. Genetic variation of C18:1 and C18:2 isomers in sheep milk fat. *Small Ruminant Research*, 103: 187-193
- Moir, A. 2006. How do spores germinate?. *Journal of Applied Microbiology*, 101: 526-530.
- Molina, P., Gallego, L. 1994. Capítulo 12: Composición de la leche. Factores de variación. En: Gallego, L., Molina, P., Caja, G. (Eds.). *Ganado ovino: raza Manchega* (pp. 191-208), Madrid, España: Ediciones Mundi-Prensa.
- Molina, M.P., Berruga, M.I., Molina, A. 2009. Calidad de la leche de oveja. *Ovinotecnia. Producción y Economía en la especie ovina* (pp. 355-367), Zaragoza, España: Ediciones Pressas Universitarias de Zaragoza.
- Montoro, V., Vicente, J., Rincón E., Pérez-Guzmán, M.D., Gallego, R., Rodríguez, J.M., Arias, R., Garde, J.J. 2007a. Actualidad de la producción de ovino lechero en la Comarca Montes de Ciudad Real: I. Estructura de las explotaciones. En: libro de actas de las XXXII Jornadas Científicas y

- XI Jornadas Internacionales de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia, 19-21 de septiembre. Mallorca, España, pp. 133-136.
- Montoro, V., Vicente, J., Rincón, E., Pérez-Guzmán, M.D., Gallego, R., Rodríguez, J.M., Arias, R., Garde, J.J. 2007b. Actualidad de la producción de ovino lechero en la Comarca Montes Norte de Ciudad Real: II. Datos técnicos. En: libro de actas de las XXXII Jornadas Científicas y XI Jornadas Internacionales de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia, 19-21 de septiembre. Mallorca, España, pp. 137-140.
- Morand-Fehr, P., Sanz Sampelayo, M.R., Fedele, Y.V., Le Frileux, Y., Eknaes, M., Schmidely, Ph., Giger Reverding, S., Bas, P., Rubino, R., Havrevoll, Ø., Sauvant, D. 2000. Effect of feeding on the quality of goat milk and cheeses. En: Proceedings of the Seventh International Conference on Goats, 15-21 de mayo. Tours, France, Tome I, pp. 53-58.
- Morand-Fehr, P., Fedele, V., Decandia, M., Le Frileux, Y. 2007. Influence of farming and feeding systems on composition and quality of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, 38: 20-34.
- Muehlherr, J.E., Zweifel, C., Corti, S., Blanco, J.E., Stephan, R. 2003. Microbiological quality of raw goat's and ewe's bulk-tank milk in Switzerland. *Journal of Dairy Science*, 86: 3849-3856.
- Muelas, R., Monllor, P., Romero, G., Sayas-Barberá, E., Navarro, Díaz, J.R., Sendra, E. 2017. Milk Technological Properties as Affected by Including Artichoke By-Products Silages in the Diet of Dairy Goats. *Foods*, 6: 112.
- Munro, G. L., Grieve P.A., Kitchen, B.J. 1984. Effect of mastitis on milk yield, milk composition, processing properties and yield and quality of milk products. *Australian Journal of Dairy Technology*, 39: 7-16.
- Murphy S.C., Boor, K.J. 2008. Sources and Causes of High Bacteria Counts in Raw Milk. Disponible en: [www.extension.org/pages/Sources\\_and\\_Causes\\_of\\_High\\_Bacteria\\_Counts\\_in\\_Raw\\_Milk:\\_An\\_Abbreviated\\_Review](http://www.extension.org/pages/Sources_and_Causes_of_High_Bacteria_Counts_in_Raw_Milk:_An_Abbreviated_Review). Consultado: 27.06.2019.
- Nájera, A. I., Barron, L. J. R., Ribeiro, P., Pelissier, F., Abilleira, E., Perez-Elortondo, F. J., Albisu, M., Salmeron, J., Ruiz de Gordo, J. C., Virto, M., Oregui, L., Ruiz, R., De Renobales, M. 2009. Seasonal changes in the technological and compositional quality of ewe's raw milk from commercial flocks under part-time grazing. *Journal of Dairy Research*, 76: 301-307.
- Nalepa, B., Olszewska, M.A., Markiewicz, L.H. 2018. Seasonal variances in bacterial microbiota and volatile organic compounds in raw milk. *International Journal of Food Microbiology* 267: 70-76.
- Karqui, R. 2011. Chapter 23: Determination of Identity and Quality of Dairy Products. En: Nollet, L.M.L., Toldrá, F. (Eds.), *Sensory Analysis of Foods of animal Origin* (pp. 414-418), Boca Ratón, London, New York: CRC Press. Taylor & Francis Group.
- Nozière, P., Grolier, P., Durand, D., Ferlay, A., Pradel, P., Martin, B. 2006a. Variations in carotenoids, fat-soluble micronutrients, and color in cows' plasma and milk following changes in forage and feeding level. *Journal of Dairy Science*, 89: 2634-2648.
- Nozière, P., Graulet, B., Lucas, A., Martin, B., Grolier, P., Doreau, M. 2006b. Carotenoids for ruminants: From forages to dairy. *Animal Feed Science Technology*, 131: 418-450.
- Nudda, A., Battaccone, G., Boaventura-Neto, O., Cannas, A., Dias-Francesconi, A.H., Stanislaw-Atzori, A., Pulina, G. 2014. Invited Review: Feeding strategies to design the fatty acid profile of sheep milk and cheese. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 43 (8): 445-456.
- O'Callaghan, D. J., O'Donnell, C.P., Payne, F.A. 2002. Review of systems for monitoring curd setting during cheesemaking. *International Journal of Dairy Technology*, 55: 65-67.

- Olde Riekerink, R.G.M., Barkema, H.W., Scholl, D.T., Poole, D.E., Kelton, D.F. 2010. Management practices associated with the bulk-milk prevalence of *Staphylococcus aureus* in Canadian dairy farms. *Preventive Veterinary Medicine*, 97: 20-28.
- Oliete, B., Calatayud, M., García, O., Arias, C., Gallego, R., Arias, R., Pérez-Guzmán, M.D. 2010. Efecto de las condiciones higiénico-sanitarias sobre el recuento de células somáticas y microorganismos totales de la leche de oveja Manchega. En: libro de actas del XXXV Congreso de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia, 22-24 de septiembre. Valladolid, España, pp. 50-55.
- Oliete, B., Arias, R., Garzón, A., Jiménez, L., Romero, J., Arias, C., Calatayud, J.R., Pérez-Guzmán, M.D., 2011. Variación del recuento de diferentes grupos de microorganismos en la leche de tanque de oveja Manchega en relación con las condiciones higiénicas de las ganaderías. Resultados preliminares. En: libro de actas del XXXVI Congreso de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia, 6-7 de octubre. San Sebastián, España, pp. 181-184.
- Oliver, S.P., Jayarao, B.M., Almeida, R.A. 2005. Foodborne pathogens in milk and the dairy farm environment: food safety and public health implications. *Foodborne Pathogens and Disease*, 2: 115-129.
- Orden APA/3273/2007, de 25 de octubre, por la que se publica el pliego de condiciones de la Denominación de Origen Protegida «Queso Manchego». «BOE» núm. 272, de 13 de noviembre de 2007, páginas 46516 a 46520 (5 págs.). Referencia: BOE-A-2007-19573. Disponible en: <http://www.boe.es/>. Consultado: 29.05.2019.
- Otero, V., Rodríguez-Calleja, J.M., Otero, A., García-López, M.L., Santos, J.A. 2013. Genetic characterization of atypical enteropathogenic *Escherichia coli* isolates from ewes' milk, sheep farm environments, and humans by multilocus sequence typing and pulsed-field gel electrophoresis. *Applied and Environmental Microbiology*, 79 (19): 5864-5869.
- Othmane, M.H., Carriedo, J.A., De La Fuente, L.F., San Primitivo, F. 2002. Factors affecting test-day milk composition in dairy ewes, and relationships amongst various milk components. *Journal Dairy Research*, 69: 53-62.
- Paape, M.J., Contreras, A. 2000. Limitaciones legales y problemática de los recuentos celulares en leche de vaca y cabra en Estados Unidos. *Ovis*, 67: 13-23.
- Paape, M.J., Poutrel, B., Contreras, A., Marco, J.C., Capuco, A.V. 2001. Milk somatic cells and lactation in small ruminants. *Journal of Dairy Science*, 84 (E. Suppl.): E237-E244.
- Pantoja, J.C.F., Reinemann, D.J., Ruegg, P.L. 2009. Associations among milk quality indicators in raw bulk milk. *Journal of Dairy Science*, 92: 4978-4987.
- Pantoja, J.C.F., Reinemann, D.J., Ruegg, P.L. 2011. Factors associated with coliform count in unpasteurized bulk milk. *Journal of Dairy Science*, 94: 2680-2691.
- Park, Y.W. 2006. Goat milk-chemistry and nutrition. En: Park, Y.W., Haenlein, G.F.W. (Eds.), *Handbook of Milk of non-bovine Mammals* (pp. 34-58), Oxford, UK/Ames, Iowa: Blackwell Publishing Professional.
- Park, Y.W., Juárez, M., Ramos, M., Haenlein, G.F.W. 2007. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, 68: 88-113.
- Paschino, P., Vacca, G.M., Dettori, M.L., Pazzola, M. 2019. An approach for the estimation of somatic cells' effect in Sarda sheep milk based on the analysis of milk traits and coagulation properties. *Small Ruminant Research*, 171: 77-81.
- Pavia, M., Guamis, B., Trujillo, A.J., Capellas, M., Ferragut, V. 1999. Changes in microstructural, textural and color characteristics during ripening of Manchego-type cheese salted by brine vacuum impregnation. *International Dairy Journal*, 9: 91-98.

- Pavič V., Antunac N., Mioč B., Ivankovič A., Havranek J.I. 2002. Influence of stage of lactation on the chemical composition and physical properties of sheep milk. *Czech Journal Animal Science*, 47: 80–84.
- Payne, F.A., Hicks, C.L., Shen, P.S. 1993. Predicting optimal cutting time of coagulating milk using diffuse reflectance. *Journal of Dairy Science*, 76(1): 48-61
- Pazzola, M., Dettori, M.L., Piras, G., Pira, E., Manca, F., Puggioni, O., Noce, A., Vacca, G.M. 2013. The effect of long-term freezing on renneting properties of Sarda sheep milk. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 78:275–279.
- Pazzola, M., Dettori, M.L., Cipolat-Gotet, C., Cecchinato, A., Bittante, G., Vacca, G.M. 2014. Phenotypic factors affecting coagulation properties of milk from Sarda ewes. *Journal of Dairy Science*, 97: 1-11.
- Pazzola, M., Cipolat-Gotet, C., Bittante, G., Cecchinato, A., Dettori, M.L., Vacca, G.M. 2018. Phenotypic and genetic relationships between indicators of the mammary gland health status and milk composition, coagulation, and curd firming in dairy sheep. *Journal of Dairy Science*, 101: 1-12
- Pellegrini, O., F. Remeuf, and M. Rivemale. 1994. Evolution des caracteristiques physico-chimiques et des parametres de coagulation du lait de brebis collecte dans la region de Roquefort. *Lait* 74: 425-442.
- Pellegrini, O., Remeuf, F., Revemale, M., Barillet, F. 1997. Renneting properties of milk from individual ewes: influence of genetic and non-genetic variables, and relationship with physicochemical characteristics. *Journal of Dairy Research*, 64: 355-366.
- Penasa, M., Toffanin, V., Cologna, N., Cassandro, M., De Marchi, M. 2016. Effects of dairy factory, milk casein content and titratable acidity on coagulation properties in Trentingrana dairy industry. *Journal of Dairy Research*, 83: 242-248.
- Pérez-Elortondo, F.J., Albisu, M., Barcina, Y. 1999. Brining time effect on physicochemical and microbiological parameters in Idiazábal cheese. *International Journal of Food Microbiology* 49, 139-149.
- Pérez-Guzmán, M.D., Oliver, F., Altares, S., Gallego, R., Montoro, V. 2002. Evolución de algunas características socioeconómicas de las ganaderías de Raza Manchega en la Comunidad Autónoma de Castilla-La Mancha. En: libro de actas de las XXVII Jornadas Científicas y VI Jornadas Internacionales de la sociedad española de ovinotecnia y caprinotecnia. 19-21 de septiembre. Valencia, España, pp. 446-451.
- Peris, C., Díaz, J.R., Fernández, N., Rodriguez, M., 1996. Effect of subclinical mastitis on milk yield in Manchega ewes: Preliminary *Journal of Dairy Science* Vol. 85, nº 6, 2002 results. En: *Somatic Cells and Milk of Small Ruminants* (pp. 203-206), Wageningen, The Netherlands: Wageningen Press.
- Peris, C., Díaz, J.R., Segura, C., Martí, A., Fernández, N. 2003. Influence of pulsation rate on udder health and teat thickness changes in dairy ewes. *Journal of Dairy Science*, 86: 530-537.
- Pilipčincová, I., Bhide, M., Dudriková, E., Trávníček, M. 2010. Genotypic Characterization of Coagulase-negative Staphylococci Isolated from Sheep Milk in Slovakia. *Acta Veterinaria Brunensis*, 79: 269-275.
- Pinto, C.L.O.P., Martins, M.L., Vanetti, M.C.D. 2006. Microbial quality of raw refrigerated milk and isolation of psychrotrophic proteolytic bacteria. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 26(3): 645-651.
- Pirisi, A., Piredda, G., Podda, F., Pintus, S. 1994. Effect of somatic cell count on sheep milk composition and cheese making properties. En: *Proceedings of the International Symposium*



- on Somatic Cells and Milk of Small Ruminants. 25-27 de Septiembre. Bella, Italia, pp. 245-251.
- Pirisi A, Piredda G, Corona M, Pes M, Pintus S, Ledda A 2000a. The effect of somatic cell count on the composition of sheep milk and the characteristics of the dairy product. En: Somatic cell count in small ruminant I. Ovine. Ovis, 66: 21-27.
- Pirisi, A., Piredda, G., Corona, M., Pes, M., Pintus, S., Ledda, A., 2000b. Influence of somatic cell count on ewe's milk composition, cheese yield and cheese quality. En: Proceedings of the Sixth Great Lakes Dairy Sheep Symposium, Guelph, Ontario, Canada, pp. 47-59.
- Pirisi, A., Lauret, A., Dubeuf, J.P. 2007. Basic and incentive payments for goat and sheep milk in relation to quality. Small Ruminant Research, 68: 167-178.
- Plomp, M., Leighton, T.J., Wheeler, K.E., Hill, H.D., Malkin, A.J. 2007. In vitro high-resolution structural dynamics of single germinating bacterial spores. En: Proceedings of the National Academy of Sciences, 5, 104 (23): 9644-9649.
- PMO, 2017. U.S. Dept. of Health and Human Services, Public Health Service and Food and Drug Admin. Grade "A" Pasteurized Milk Ordinance. 2017 Revision.
- Poli, A., Guglielmini, E., Sembeni, S., Spiazzi, M., Dellaglio, F., Rossi, F., Torriani, S. 2007. Detection of *Staphylococcus aureus* and enterotoxin genotype diversity in Monte Veronese, a Protected Designation of Origin Italian cheese. Letters in Applied Microbiology, 45: 529-534.
- Poulsen, N. A., Buitenhuis, A.J., Larsen, L.B. 2015a. Phenotypic and genetic associations of milk traits with milk coagulation properties. Journal of Dairy Science, 98: 2079-2087
- Poulsen, N.A., Rybicka, I., Poulsen, H.D., Larsen, L.B. 2015b. Seasonal variation in content of riboflavin and major minerals in bulk milk from three Danish dairies. International Dairy Journal, 42: 6-11.
- Poveda, J.M., Sousa, M.J., Cabezas, L., McSweeney, P.L.H. 2003. Preliminary observations on proteolysis in Manchego cheese made with a defined-strain starter culture and adjunct starter (*Lactobacillus plantarum*) or a commercial starter. International Dairy Journal, 13: 169-178.
- Poveda, J.M., Cabezas, L., McSweeney, P.L.H. 2004. Free amino acid content of Manchego cheese manufactured with different starter cultures and changes throughout ripening. Food Chemistry, 84: 213-218.
- Prache, S., Cornu, A., Berdagué, J.L., Priolo, A. 2005. Traceability of animal feeding diet in the meat and milk of small ruminants. Small Ruminant Research, 59: 157-168.
- Programa de Mejora de la Raza Ovina Manchega, 2011, AGRAMA-MAPAMA, 58 pp. Disponible en: <http://www.agrama.org/documentos/PROGRAMA%20DE%20MEJORA%202011.pdf>. Consultado: 07.10.2018.
- Prpić Z, Konjačić M, Vnučec I, Ramljak J, Ivanković A. 2005. Non-nutritional factors of milk urea concentration. Stočarstvo, 59 (3): 173-187.
- Pugliese, C., Acciaioli, A., Rappaccini, S., Parisi, G., Franci, O. 2000. Evolution of chemical composition, somatic cell count and renneting properties of the milk of Massese ewes. Small Ruminant Research, 35: 71-80.
- Puleda, A., Gaspa, G., Manca, M.G., Serdino, J., Urgeghe, P.P., Dimauro, C., Negrini, R., Macciotta, N.P.P. 2017. Estimates of heritability and genetic correlations for milk coagulation properties and individual laboratory cheese yield in Sarda ewes. Animal 11, 920:928
- Pulina, G. 1990. Influence of feeding on ewes milk quality. L'Informatore Agrario, 37: 31-39.
- Pulina, G., Macciotta, N., Nudda, A., 2005. Milk composition and feeding in the Italian dairy sheep. Italian Journal of Animal Science, 4 (Suppl. 1): 5-14.

- Pulina, G., Nuda, A., Battacone, G., Cannas, A., 2006. Effects of nutrition on the contents of fat, protein, somatic cells, aromatic compounds, and undesirable substances in sheep milk. *Animal Feed Science and Technology*, 131: 255-291.
- Pyörälä, S., Taponen, S. 2009. Coagulase-negative staphylococci-Energizing mastitis pathogens. *Veterinary Microbiology*, 134: 3-8.
- Quigley, L., O'Sullivan, O., Beresford, T.P., Ross, R.P., Fitzgerald, G.F., Cotter, P.D. 2011. Molecular approaches to analysing the microbial composition of raw milk and raw milk cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 150: 81-94.
- Quigley, L., O'Sullivan, O., Stanton, C., Beresford, T.P., Ross, R.P., Fitzgerald, G.F., Cotter, P.D. 2013. The complex microbiota of raw milk: review article. *FEMS Microbiology Reviews*, 37: 664-698.
- Raats, D., Offek, M., Minz D., Halpern, M. 2011. Molecular analysis of bacterial communities in raw cow milk and the impact of refrigeration on its structure and dynamics. *Food Microbiology*, 28: 465-471.
- Ramírez-Navas, J.S. 2010. Espectrocolorimetría en caracterización de leche y queso. *Tecnología Láctea Latinoamericana*, 61: 57.
- Ramón, M., Román, M., Arias, R., Gallego, R., Pérez-Guzmán, M.D. 2004. Recuento de células somáticas (RCS) en leche de tanque en ganaderías de ovino Manchego. En: XXI Jornadas del Grupo de Técnicos Especialistas en Mastitis y Calidad de la Leche. 8 -9 de octubre, Oviedo, España, pp. 52-53.
- Ramón, M., Fernández-Perea, M.T., Pérez-Guzmán, M.D., Sánchez, P.J., Serrano, M. 2006. Parámetros genéticos de los caracteres lecheros en la raza ovina Manchega. *ITEA*, Vol. Nº 102 (2): 115-121.
- Ramos, M., Juárez, M. 2003. Sheep milk. En: Rogisnski, J., Fuquay, J.W., Fox, P.F. (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Sciences* (pp. 2539-2545), Vol. 4, Amsterdam, The Netherlands: Academic Press.
- Raty, J. A., Peiponen, K.E. 1999. Reflectance study of milk in the UV-visible range. *Applied Spectroscopy*, 53: 1123-1127.
- Raynal-Ljutovac, K., Pirisi, A., De Crémoux, R., Gonzalo, C. 2007. Somatic cells of goat and sheep milk: Analytical, sanitary, productive and technological aspects. *Small Ruminant Research*, 68: 126-144.
- Raynal-Ljutovac, K., Lagriffoul, G., Paccard, P., Guillet, I., Chilliard, Y. 2008. Composition of goat and sheep milk products: An update. *Small Ruminant Research*, 79: 57-72.
- Real Decreto 460/2002, de 24 de mayo, por el que se establecen ayudas a la financiación de acciones de asesoramiento para la mejora de la calidad de la leche producida y recogida en las explotaciones («BOE» núm.131, de 1 de junio de 2002).
- Real Decreto 368/2005, de 8 de abril, por el que se regula el control oficial del rendimiento lechero para la evaluación genética en las especies bovina, ovina y caprina. («BOE» núm. 97, de 23 de abril de 2005).
- Real Decreto 2129/2008, de 26 de diciembre, por el que se establece el Programa nacional de conservación, mejora y fomento de las razas ganaderas. («BOE» núm. 23, de 27 de enero de 2009).
- Real Decreto 1589/2009, de 16 de octubre, por el que se establecen las bases reguladoras para la concesión de subvenciones para la implantación de sistemas de aseguramiento para la mejora integral de la calidad de la leche cruda producida y recogida en las explotaciones, y su certificación externa («BOE» núm. 270, de 9 de noviembre de 2009).



- Real Decreto 752/2011, de 27 de mayo, por el que se establece la normativa básica de control que deben cumplir los agentes del sector de leche cruda de oveja y cabra (BOE nº 237, de 2 de octubre de 2012, p. 69843-69857).
- Real Decreto 1363/2012, de 28 de septiembre, por el que se regula el reconocimiento de las organizaciones de productores de leche y de las organizaciones interprofesionales en el sector lácteo, y se establecen sus condiciones de contratación (BOE nº 79, de 2 de abril de 2011, p. 34315-34323).
- Recio, I., De la Fuente, M.A., Juárez, M., Ramos, M. 2009. Bioactive components in sheep milk. En: Park, Y.W. (Eds.), *Bioactive Components in Milk and Dairy Products* (pp. 83-104), Chichester, UK: Wiley-Blackwell.
- Reglamento (CE) nº 178/2002 del Parlamento Europeo y del Consejo de 28 de enero de 2002, por el que se establecen los principios y los requisitos generales de la legislación alimentaria, se crea la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria y se fijan procedimientos relativos a la seguridad alimentaria. (DO L 31 de 1.2.2002, p. 1).
- Reglamento (CE) nº 852/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo de 29 de abril de 2004, relativo a la higiene de los productos alimenticios (DO L 139 de 30.4.2004, p. 1).
- Reglamento (CE) nº 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo de 29 de abril de 2004, modificado por el Reglamento (CE) nº 1662/2006, por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal. (DO L 139 de 30.4.2004, p. 55/205).
- Reglamento (CE) nº 854/2004 de 29 de abril de 2004, por el que se establecen normas específicas para la organización de controles oficiales de los productos de origen animal destinados al consumo humano (DOUE-L-2004-81037 de 30.4.2004, p. 206/320).
- Reglamento (CE) nº 2073/2005 de la Comisión de 15 de noviembre de 2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios (Texto pertinente a efectos del EEE). (DO L 338 de 22.12.2005, p. 1).
- Reglamento (UE) nº 1151/2012 del Parlamento Europeo y del Consejo de 21 de noviembre de 2012 sobre los regímenes de calidad de los productos agrícolas y alimenticios (DO L 343 de 14.12.2012, p. 29).
- Reglamento de Ejecución (UE) nº 129/2012 de la Comisión de 13 de febrero de 2012 por el que se aprueban modificaciones menores del pliego de condiciones de una denominación inscrita en el Registro de Denominaciones de Origen Protegidas y de Indicaciones Geográficas Protegidas [Queso Manchego (DOP)]. (DO L43/1 de 16.2.2012).
- Resolución de 27 de enero de 2011, de la Dirección General de Industria y Mercados Alimentarios, por la que se concede la protección nacional transitoria a la modificación de la Denominación de Origen Protegida «Queso Manchego». BOE núm.41, de 17 de febrero de 2011, páginas 18141 a 18149. Referencia: BOE-A-2011-3144.
- Ribeiro Júnior, J.C., De Oliveira, A.M., De G. Silva, F., Tamanini, R., De Oliveira, A.L.M., Beloti, V. 2018. The main spoilage-related psychrotrophic bacteria in refrigerated raw milk. *Journal of Dairy Science*, 101: 75-83.
- Richter, R.L., Vedamuthu, E.R. 2001. Milk and milk Products. En: Downes F.P., Ito, K., (Eds.), *Compendium of Methods for the Microbiological examination of Foods* (pp. 483-495), Washington, DC, EEUU: American Public Health Association.
- Riedel, J.L., Casasús, I., Bernués, A. 2007. Sheep farming intensification and utilization of natural resources in a Mediterranean pastoral agro-ecosystem. *Livestock Science*, 111: 153-163.
- Riggio, V., Portolano, B. 2015. Genetic selection for reduced somatic cell counts in sheep milk: A review. *Small Ruminant Research*, 126: 33-42.

- Rivas Rangel, J.H., 2014. Nivel de Competitividad del Sistema Productivo Ovino Lechero de la DOP “Queso Manchego”. Propuestas de Mejoras de Viabilidad de las Explotaciones. Tesis Doctoral, Facultad de Veterinaria, Universidad de Córdoba, 209 pp.
- Rivas, J., Perea, J., Angón, E., Barba, C., Morantes, M., Dios-Palomares, R., García, A. 2015. Diversity in the dry land mixed system and viability of dairy sheep farming. *Italian Journal of Animal Science*, 14:3513, 179-186.
- Rivas, J., Perea, J.M., De-Pablos-Heredero, C., Morantes, M., Angón, E., Barba, C., García, A. 2019a. Role of technological innovation in livestock breeding programmes: a case of cereal-sheep system. *Italian Journal of Animal Science*, 18 (1), 1049-1057.
- Rivas, J., Perea, J.M., De-Pablos-Heredero, C., Angón, E., Barba, C., García, C. 2019b. Canonical correlation of technological innovation and performance in sheep’s dairy farms: Selection of a set of indicators. *Agricultural Systems*, 176: 102665.
- Rodríguez, G.M., Hidalgo, L.M.Y., Althaus, R.L., Molina, P.P., Peris, R.C., Fernández, M.N. 2002. Primeros resultados de producción y composición de leche de oveja Guirra. En: libro de actas de las XXVII Jornadas Científicas de la sociedad española de ovinotecnia y caprinotecnia. 19-21 de septiembre, Valencia, España, pp. 913-918.
- Rodríguez-Nogales, J.M., Vivar-Quintana, A.M., Revilla, I. 2007. Influence of Somatic cell count and breed on capillary electrophoretic protein profiles of ewes’s milk: A chemometric study. *Journal Dairy Science*, 90: 3187-3196.
- Romero, G., Bueso-Ródenas, J., Moya, F., Alejandro, M., Díaz, J.R. 2017. Short communication: Effects of pulsation type (alternate and simultaneous) on mechanical milking of dairy goats (II)—Effect of milkpipeline height on the milking efficiency and status of teat-end in Murciano-Granadina goats. *Small Ruminant Research*, 146: 53-57.
- Romero, T., Beltrán, M.C., Rodríguez, M., Martí De Olives, A., Molina, P. 2013. Short communication: Goat calostrum quality: Litter size and lactation number effects. *Journal of Dairy Science*, 96: 7256-7531.
- Rovira, S., Garcia, V., Laencina, J., Belen Lopez, M. 2013. Microstructure of industrially manufactured goat cheese Queso de Murcia al Vino during synaeresis. *International Journal of Dairy Technology*, 66:382–389.
- Rulquin, H. 1997. Regulation of the synthesis and the secretion of milk constituents in ruminants. *Rencontres Recherches Ruminants*, 4: 327-338.
- Sakul, H., Boylan, W.J. 1992. Evaluation of US sheep breeds for milk production and milk composition. *Small Ruminant Research*, 7: 39-44.
- Salcedo, G., Bonet, A. 2015. Interpretación del contenido de urea en leche. Claves para su minimización en las explotaciones de Cantabria (España). Gobierno de Cantabria. Consejería de Medio Rural, Pesca y Alimentación, 64 pp.
- Sallato, O., Fidelle, F., Arranz, J.M. 2013. Le taux d’urée dans le lait de brebis: un indicateur de l’équilibre de la ration. CDEO Centre Départemental de l’Elevage Ovin. Disponible en: <http://gis-id64.org/wp-content/uploads/2018/05/3.1.18.pdf>. Consultado: 28.05.2019.
- Salmeron, J., de Vega, C., Perez Elortondo, F.J., Albisu, M., Barron, L.J.R. 2002. Effect of pasteurization and seasonal variations in the microflora of ewe’s milk for cheesemaking. *Food Microbiology*, 19: 167–174.
- Sampimon, O.C., Vernooij, J.C.A., Sol, J. 2004. Praktische aspecten rond droogzetten. *Tijdschrift Diergeneeskunde*, 129: 823–833.
- Sampimon, O., Van den Borne, B.H.P., Santman-Berends, I., Barkema, H.W., Lam, T. 2010. Effect of coagulase-negative staphylococci on somatic cell count in Dutch dairy herds. *Journal of Dairy Research*, 77: 318-324.

- Sanjuán, S., Rúa, J., García-Armesto, M.R. 2003. Microbial flora of technological interest in raw ovine milk during 6°C storage. *International Journal of Dairy Technology*, 56: 143-148.
- Sanz Sampelayo, M.R., Chilliard, Y., Schmidely, Ph., Boza, J. 2007. Influence of type of diet on the fat constituents of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, 68: 42-63.
- Sawant, A.A., Pillai, S.R., Jayarao, B.M. 2002. Evaluation of five selective media for isolation of catalase-negative gram-positive cocci from bulk tank milk. *Journal Dairy Science*, 85: 1127-1132.
- Sbodio, O.A., Tercero, E.J., Coutaz, V.R., Luna, J.A., Martinez, E. 1997. Simultaneous interaction of pH, CaCl<sub>2</sub> addition, temperature and enzyme concentration on milk coagulation properties. *Food Science and Technology International*, 3: 291-298.
- Sbodio, O.A., Tercero, E.J., Coutaz, R., Martinez, E. 2002. Optimizing processing conditions for milk coagulation using the hot wire method and response surface methodology. *Journal of Food Science*, 67 (3):1097-1102.
- Sbodio, O.A., Revelli, G.R. 2012. Coagulación de la leche. Desarrollo de un dispositivo para el “monitoreo” online del proceso. *Avances en la Argentina. Revisiones RIA*, 8 (3): 236-246.
- Schukken, Y., Wilson, D., Welcome, F., Garrison-Tikofsky, L., Gonzalez, R. 2003. Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. *Veterinary Research, BioMed Central*, 34 (5):.579-596.
- Schultz, L. H. 1977. Somatic cells in milk—Physiological aspects and relationship to amount and composition of milk. *Journal of Food Protection*, 40: 125-131.
- Scintu, M.F., Piredda, G. 2007. Tipicity and biodiversity of goat and sheep milk products. *Small Ruminant Research*, 68: 221-231.
- Selvaggi, M., Tufarelli, V. 2012. Caseins of Goat and Sheep Milk: Analytical and Technological Aspects. En: Ventimiglia, A.M., Birkenhäger, J.M., (Eds.), Chapter 1: Casein. Production, Uses and Health Effects (pp 1-26), Nova Publishers, Inc.
- Selvaggi, M., Laudadio, V., Dario, C., Tufarelli, V. 2014. Investigating the genetic polymorphism of sheep milk proteins: a useful tool for dairy production. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94: 3090-3099.
- Serieys, F. 1985. Interpretation des concentrations cellulaires du lait individuel de vache pour le diagnostic d'état d'infection mammaire. *Annales de recherches veterinaires*, 16: 263-269.
- Serrano, M., Pérez-Guzmán, M.D., Montoro, V., Jurado, J.J. 2003. Genetic analysis of somatic cell count and milk traits in Manchega ewes. Mean lactation and test-day approaches. *Livestock Production Science*, 84: 1-10.
- Setlow, P. 2003. Spore germination. *Current Opinion in Microbiology*, 6: 550-556.
- Sevi, A., Albenzio, M., Taibi, L., Dantone, D., Massa, S., Annicchiarico, G. 1999a. Changes of somatic cell count through lactation and their effects on nutritional, renneting and bacteriological characteristics of ewe's milk. *Advances in Food Science*, 21: 122–127.
- Sevi, A., Massa, S., Annicchiarico, G., Dell'aquila, S., Muscio, A. 1999b. Effect of stocking density on ewes milk yield, udder health and microenvironment. *Journal of Dairy Research*, 66: 489-499.
- Sevi, A., Taibi, L., Albenzio, M., Muscio, A., Annicchirico, G. 2000. Effect of parity on milk yield, composition, somatic cell count, renneting parameters and bacteria counts of Comisana ewes. *Small Ruminant Research*, 37: 99-107.
- Sevi, A., Albenzio, M., Marino, R., Santillo, A., Muscio, A. 2004. Effects of lambing season and stage of lactation on ewe milk quality. *Small Ruminant Research* 51: 251-259.

- Shingfield, K.J., Salo, V., Pahkala, E., Toivonen, V., Jaakkola, S., Piironen, V., Huhtanen, P. 2005. Effect of forage conservation method, concentrate level and propylene glycol on the fatty acid composition and vitamin content of cows' milk. *Journal of Dairy Research*, 72 (3): 349-361.
- Silanikove, N., Leitner, G., Merin, U. 2016. Influence of Animal Health, Breed, and Diet on Non-cow Milk Composition. En: Tsakalidou, E. y Papadimitriou, K. (Eds.), *Non-Bovine Milk and Milk Product* (pp 61-79), London, UK: Academic Press.
- Smit, G., Smit, B.A., Engell, W.J.M. 2005. Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavor profiling of cheese products. *FEMS Microbiology Reviews*, 29: 591-610.
- Solah, V. A., Staines, V., Honda, S., Limley, H.A. 2007. Measurement of milk color and composition: Effect of dietary intervention on Western Australian Holstein-Friesian cow's milk quality. *Journal of Food Science*, 72: 560-566.
- Sorhaug T., Stepaniak, L. 1997. Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: quality aspects. *Trends Food Science Technology*, 8: 35-41.
- Soyeurt, H., Gengler, N. 2008. Genetic variability of fatty acids in bovine milk. *Biotechnology, Agronomy Society Environment*, 12: 203-210.
- Spiers, J.S., Buckling, A., Rainey, P.B. 2000. The causes of *Pseudomonas* diversity. *Microbiology*, 146: 2345-2350.
- Stelwagen, K., Davis, S.R., Farr, V.C., Prosser, C.G., Sherlock, R.A. 1994. Mammary epithelial cell tight junction integrity and mammary blood flow during an extend milking interval in goats. *Journal of Animal Science*, 77: 426-432.
- Taponen, S., Salmikivi, L., Simojoki, H., Koskinen, M.T., Pyörala, S. 2009. Real-time polymerase chain reaction-based identification of bacteria in milk samples from bovine clinical mastitis with no growth in conventional culturing. *Journal of Dairy Science*, 92: 2610-2617.
- Theodorou, G., Kominakis, A., Rogdakis, E., Politis, I. 2007. Factors affecting the plasmin-plasminogen system in milk obtained from three Greek dairy sheep breeds with major differences in milk production capacity. *Journal of Dairy Science*, 90 (7): 3263-3269.
- Thomas, J., Dalla Fontana, L., Ramos, E., Thomas, J., Demaria, M., Costamagna, D., Faggiano, M., Bonzi, E. 2012. Factores de riesgo de contaminación de la leche con bacterias esporuladas (*Clostridium*) en establecimientos lecheros de la provincia de Santa Fe. *Revista FAVE-Ciencias Agrarias*, 11 (1): 19-28.
- Todaro, M., Scatassa, M.L., Bonanno, A. 2014. The quality assessment of Valle del Belice sheep milk and cheeses produced in the hot summer season in Sicily. *Dairy Science and Technology*, 94: 225-239.
- Tolle, A. 1980. The microflora of the udder, p 4. En: *Factors Influencing the Bacteriological Quality of Raw Milk*. International Dairy Federation Bulletin, Document 120.
- Tomáška, M., Suhren, g., Hanus, O., Walte, H.G., slottova, A., hofericová, M. 2006. The application of flow cytometry in determining the bacteriological quality of raw sheep's milk in Slovakia. *Lait*, 86: 127-140.
- Tombarkiewicz, B., Grzyb, J., Doktor, J., Kalinowska, B., Weglarz, A., Pawlak, K., Niedziółka, J. 2009. Hygienic and sanitary conditions of the goat farm versus some health parameters of goats. *Annals of Animal Science*, 9 (nº 1): 61-72.
- Toro-Mújica, P., García, A., Gómez-Castro, G., Acero, R., Perea, J., Rodríguez-Estévez, V., Aguilar, C., Vera, R. 2011. Technical efficiency and viability of organic dairy sheep farming systems in a traditional area for sheep production in Spain. *Small Ruminant Research*, 100: 89-95.
- Toro-Mújica, P., García, A., Gómez-Castro, G., Perea, J., Rodríguez-Estévez, V., Angón, E. 2012. Organic dairy sheep farms in southcentral Spain: Typologies according to livestock management and economic variables. *Small Ruminant Research* 104:28-36.

- Toro-Mújica, P., Aguilar, C., Vera, R., Rivas, J., García, A. 2015. Sheep production systems in the semi-arid zone: Changes and simulated bio-economic performances in a case study in Central Chile. *Livestock Science*, 180: 209-219.
- Torres, A., Albiñana, B., Díaz, J.R., Gallego, L. 1994. Capítulo 5: Estructura y Características de las Explotaciones. En: Gallego, L., Molina, P., Caja, G. *Ganado ovino: raza Manchega* (pp. 191-208), Madrid, España: Ediciones Mundi-Prensa.
- Torres-Llanez, M.J., Vallejo-Cordoba, B., González-Córdova, A.F. 2005. Péptidos bioactivos derivados de las proteínas de la leche. *ALAN* [online], 55 (2): 111-117.
- Ubeyratne, J.K.H., Jayaweera, M.D.N. 2014. Proteolytic and lipolytic activities of mesophilic and psychrotrophic bacteria in raw and heat treated liquid milk collected from some processing centers. *Sri Lanka Veterinary Journal*, 61(A): 5-10.
- USDA 2003. Most Probable Number Tables, MLG Appendix 2.02. United States Department of Agriculture. Food Safety and Inspection Service, Office of Public Health and Science: 1-8.
- Vacca, G.M., Pazzola, M., Dettori, M.L., Pira, E., Malchiodi, F., Cipolat-Gotet, C., Cecchinato, A., Bittante, G. 2015. Modeling of coagulation, curd firming, and syneresis of milk from Sarda ewes. *Journal of Dairy Science*, 98: 1-15.
- Vacca, G.M., Stocco, G., Dettori, M.L., Pira, E., Bittante, G., Pazzola, M. 2018. Milk yield, quality, and coagulation properties of 6 breeds of goats: Environmental and individual variability. *Journal of Dairy Science*, 101: 7236-7247.
- Vacca, G.M., Cipolat-Gotet, C., Paschino, P., Casu, S., Usai, M.G., Bittante, G. 2019. Variation of milk technological properties in sheep milk: Relationships among composition, coagulation and cheese-making traits. *International Dairy Journal*, 97: 5-14.
- Vacheyrou, M., Normand, A.C., Guyot, P., Cassange, C., Piarroux, R., Bouton, Y. 2011. Cultivable microbial communities in raw cow milk and potential transfers from stables of sixteen French farms. *International Journal of Food Microbiology*, 146: 253-262.
- Vagnoni, D., Broderich, G. 1997. Effects of Supplementation of Energy or Ruminally Undegraded Protein to Lactating Cows Fed Alfalfa Hay or Silage. *Journal of Dairy Science*, 80: 1703-1712.
- Valerio, D., García, A., Perea, J., Acero, R., y Gómez, G. 2009. Caracterización social comercial de los sistemas ovinos y caprinos de la región noroeste de Republica Dominicana. *Interciencia*. 34, 637-644.
- Vasileiou, N.G.C., Cripps, P.J., Loannidi, K.S., Chatzopoulos, D.C., Gougoulis, D.A., Sarrou, S., Orfanou, D.C., Politis, A.P., Calvo Gonzalez Valerio, T., Argyros, S., Mavrogianni, V.S., Petinaki, E., Fthenakis, G.C. 2017. Extensive countrywide field investigation of subclinical mastitis in sheep in Greece. *Journal of Dairy Science*, 101: 1-14.
- Vautor, E., Carsenti-Dellamonica, H., Sabah, M., Mancini, G., Pépin, M., Dellamonica, P. 2007. Characterization of *Staphylococcus aureus* isolates recovered from dairy sheep farms (agr group, adherence, slime, resistance to antibiotics). *Small Ruminant Research*, 72: 197-199.
- Vázquez, S.M., Suárez, H., Zapata, S. 2009. Utilización de sustancias antimicrobianas producidas por bacterias ácido lácticas en la conservación de la carne. *Revista Chilena de Nutrición*, 36(1): 64-71.
- Vázquez-Yáñez, O.P., González Rodríguez, A., López Díaz J. 2006. Concentrate supplementation effects on dairy cows grazing pastures during spring. En: Lloveras, J., González Rodríguez, A., Vázquez Yáñez, O.P., Piñeiro, J., Santamaria, L., Olea, L. (Eds.), *Sustainable grassland productivity* (pp 194-196), Vol. 11, *Grassland Science in Europe*, Badajoz, España: Poblaciones EGF.
- Verdier-Metz, I., Michel, V., Delbés, C., Montel M. Ch. 2009. Do milking practices influence the bacterial diversity of raw milk?. *Food Microbiology*, 26: 305-310.

- Verraes, C., Claeys, W., Cardoen, S., Daube, G., De Zutter, L., Inberechts, H., Dierick, K., Herman, L. 2014. A review of the microbiological hazards of raw milk from animal species other than cows. *International Dairy Journal*, 39: 121-130.
- Vissers, M.M.M., Driehuis, F., Te Giffel, M.C., De Jong, P., Lankveld, J.M.G. 2006. Improving farm management by modeling the contamination of farm tank milk with butyric acid bacteria. *Journal of Dairy Science*, 89 (25): 850-858.
- Vissers, M., Driehuis, F., Te Giffel, M., De Jong, P., & Lankveld, J. 2007a. Concentrations of butyric acid bacteria spores in silage and relationships with aerobic deterioration. *Journal of Dairy Science*, 90, 928–936.
- Vissers, M., Driehuis, F., Te Giffel, M., De Jong, P., & Lankveld, J. 2007b. Minimizing the level of butyric acid bacteria spores in farm tank milk. *Journal of Dairy Science*, 90, 3278–3285.
- Vissers, M.M.M., Driehuis, F. 2009. Chapter 1. On-Farm Hygienic Milk Production. En: Adnan, Dr., Tamine, Y., (Eds.), *Milk Processing and Quality Management*, Blackwell Publishing Ltd, 324 pp.
- Vithanage, N.R., Dissanayake, M., Bolge, G, Palombo, E.A., Yeager, T.R., Datta, N. 2016. Biodiversity of culturable psychrotrophic microbiota in raw milk attributable to refrigeration conditions, seasonality and their spoilage potential. *International Dairy Journal*, 57: 80-90.
- Vivar-Quintana, A.M., Beneitez De La Mano, E., Revilla, I. 2006. Relationship between somatic cell counts and the properties of yoghurt made from ewes' milk. *International Dairy Journal*, 16: 262-267.
- Wallace, R.L. 2008. Bacteria counts in Raw Milk. Illionis Livestock Trail by University of Illinois Extension. Disponible en: <http://livestocktrail.illinois.edu/uploads/dairynet/papers/Bacteria%20Counts%20in%20Raw%20Milk%20DD%202008.pdf>. Consultado: 02.06.2018.
- Walstra, P. 1993. The syneresis of curd. In *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* (pp. 141-191), Vol 1. General Aspects. 2nd ed., Chapman & Hall. London.
- Wathes, C.M. 1994. Air and surface hygiene. En: Wathes, C.M., Charles, D.R. (Eds.), *Livestock Housing* (pp. 123-148), Wallingford, UK: CAB International.
- Wendorff, B. 2002. Milk composition and cheese yield. En: *Proceedings 7th Great Lakes Dairy Sheep Symposium*, Ithaca, NY. Dept. Anim. Sci., Univ. of Wisconsin–Madison, pp 104-117.
- Wendorff, W.L., 2017. Chapter 3. Sheep milk: processing of sheep milk. En: Park, Y.W., Haenlein, G.F.W. (Eds.), *Handbook of milk of non-bovine mammals*. 1ed, Oxford, UK: Blackwell Publishing, 297 pp.
- White, C.H., Bishop, J.R., Morgan, D.M. 1992. Microbiological methods for dairy products. En: Marshall, R.T., (Ed.), *Standard methods for the Examination of Dairy Products*. Washington, DC, EEUU: American Public Health Association (APHA).
- WIKIPEDIA, 2019. La Mancha. Disponible en: [https://es.wikipedia.org/wiki/La\\_Mancha](https://es.wikipedia.org/wiki/La_Mancha). Consultado: 05.06.2019.
- Winkelman, A. M., Johnson, D. L., MacGibbon, A.K. H. 1999. Estimation of heritabilities and correlations associated with milk color traits. *Journal of Dairy Science*, 82: 215-224.
- Yang, A., Larsen, T.W., Tume, R.K. 1992. Carotenoid and retinol concentrations in serum, adipose tissue and liver and carotenoid transport in sheep, goats and cattle. *Australian Journal of Agricultural Research*, 43: 1809-1817.
- Young, W., Hine, B.C., Olivia, A.M., Wallace, O.A.M., Callaghan, M., Bibiloni, R. 2015. Transfer of intestinal bacterial components to mammary secretions in the cow. *PeerJ*, 3: 888.
- Zadoks, R.N., Allore, H.G., Barkema, H.W., Sampimon, O.C., Gröhn, Y.T., Schukken, Y.H. 2001. Analysis of an Outbreak of *Streptococcus uberis* Mastitis. *Journal of Dairy Science*, 84: 590-599.



- Zadoks, R.N., Middleton, J.R., McDougall, S., Katholm, J., Schukken, Y.H. 2011. Molecular epidemiology of mastitis pathogens of dairy cattle and comparative relevance to humans. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 16: 357-372.
- Zendri, F., Ramazin, M., Cipolat-Gotet, C., Sturaro, E. 2017. Variation of milk coagulation properties, cheese yield, and nutrients recovery in curd of cows of different breeds before, during and after transhumance to highland summer pastures. *Journal of Dairy Research*, 84 (1): 39-48.
- Zervas, G., Tsiplakou, E. 2011. The effect of feeding systems on the characteristics of products from small ruminants. *Small Ruminant Research* 101: 140-149.
- Zucali, M., Bava, L., Tamburini, A., Brasca, M., Vanoni, L., Sandrucci, A. 2011. Effects of season, milking routine and cow cleanliness on bacterial and somati cell counts of bulk tank milk. *Journal of Dairy Research*, 78: 436–441.
- Zucali, M., Bava, L., Colombini, S., Brasca, M., Decimo, M., Morandi, S., Tamburini, A., Groveto, G.M. 2015. Management practices and forage quality affecting the contamination of milk with anaerobic spore-forming bacteria. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(6): 1294-1302.
- Zuljan, F.A., Mortera, P., Alarcón, S.H., Blancato, V.S., Espariz, M., Magni, C. 2016 Review: Lactid acid bacteria decarboxylation reactions in cheese. *International Dairy Journal*, 62: 53-62.

